

Aus der Chirurgischen Universitätsklinik in Marburg
Direktor: Prof. Dr. med. M. Schwaiger

Knochenmarkfunktionsprüfung nach Moeschlin an Ratten unter der Wirkung von Trenimon und Puri-Nethol

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der gesamten Medizin
der hohen Medizinischen Fakultät
der Philipps-Universität Marburg

vorgelegt von

Albert Said Bedros
aus El-Hassake/Syrien

Marburg 1968

Fotodruck von Erich Mauersberger in Marburg

Aus der Chirurgischen Universitätsklinik in Marburg
Direktor: Prof. Dr. med. M. Schwaiger

Knochenmarkfunktionsprüfung nach Moeschlin an Ratten unter der Wirkung von Trenimon und Puri-Nethol



Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der gesamten Medizin
der hohen Medizinischen Fakultät
der Philipps-Universität Marburg

vorgelegt von

Albert Said Bedros

aus El-Hassake/Syrien

Marburg 1968

Fotodruck von Erich Mauersberger in Marburg



Angenommen von der Medizinischen Fakultät
der Universität Marburg am 19.2.1968

gedruckt mit Genehmigung der Fakultät

Dekan : Prof. Dr. med. R. Siegert

Referent : Prof. Dr. med. H. Streicher

Correferent: Prof. Dr. med. M. Schwaiger

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
A. Einleitung	1
1) Die Regulation der Leukozytenzahlen im peripheren Blut	1
2) Die Knochenmarkfunktionsprüfung nach MOESCHLIN	4
3) Chemisch-pharmakologische Eigenschaften und Anwendung von Trenimon	6
4) Chemisch-pharmakologische Eigenschaften und Anwendung von Puri-Nethol	9
B. Fragestellung	11
C. Material und Methodik	12
D. Versuchsergebnisse	16
1) Vorversuche	16
a) Reaktion der Leukozytenzahl auf Injektion von NaCl-Lösung	16
b) Reaktion auf unterschiedliche Pyripher-Gaben	17
2) Versuche nach Trenimon-Gaben	27
3) Versuche nach Puri-Nethol-Gaben	49
E. Diskussion	63
F. Zusammenfassung	70
G. Literatur	71



Digitized by the Internet Archive
in 2026

A.

EINLEITUNG

1) Die Regulation der Leukozytenzahl im periferen Blut.

Bei gesunden Menschen ist die Leukozytenzahl im periferen Blut im Rahmen einer physiologischen Schwankungsbreite weitgehend konstant. Dazu müssen die Leukozyten, die im Rahmen ihrer Abwehraufgaben auf den Schleimhäuten des Bronchial-, Urogenital- und Magendarmtraktes sowie auch im interstiellen Gewebe zu Grunde gehen, ständig ersetzt werden. Auch der Abbau gealterter Leukozyten, der nach KOMIYA in der Leber erfolgen soll, muß durch entsprechende Neubildung ausgeglichen werden. Dabei dürfte die Lebensdauer normaler Leukozyten etwa bei 10 Tagen liegen (WEISKOTTEN, KLINE). Wie diese Anpassung des Leukozytennachschiebs an den Leukozytenuntergang in der Peripherie erfolgt, ist an gesunden Menschen oder Versuchstieren ohne Weiteres direkt nicht feststellbar.

Erst unter besonderen Bedingungen zeigen sich deutliche Veränderungen der Leukozytenzahl und der Zusammensetzung des weißen Blutbildes im Ausstrichpräparat. So treten im Verlauf bestimmter bakterieller Infektionen ganz charakteristische, gesetzmäßig ablaufende Leukozytenveränderungen auf, die SCHILLING als "biologische Leukozytenkurve" mit 4 Phasen auffaßte: Vorphase, neutrophile Kampfphase, monocytaire Überwindungsphase, lymphozytär-eosinophile Heilphase. Um die Gesetzmäßigkeit solcher Veränderungen untersuchen zu können, wurden zahlreiche Versuche unternommen, bei denen eine Leukozytose durch chemische Substanzen provoziert werden sollte. Stoffe die, meist zusammen mit anderen Reaktionen, wie Fieber, eine Leukozytose hervorrufen, sind Typhusvakzine (HAYASCHIDA), Ruß (BLUMENCRON et al.), Pyrifer[®]¹⁾ (MOESCHLIN, HOFF, HEILMEYER, STREICHER et al.), Lipopolysaccharide aus der Hülle von Colibakterien (WESTPHAL et al., KELLER) und andere. Bereits HOFF konnte zeigen, daß die

1) Pyrifer[®]: Präparat der ASTA-Werk AG., welches fiebererzeugende Wirkstoffe aus nicht pathogenen Coli-Stämmen enthält. 1 E = 1 Mill. Keime.

Leukozytose nach Injektion dieser Substanzen Teil einer allgemeinen Abwehrreaktion des Körpers auf den gesetzten Reiz ist. Nach seiner Vorstellung führt ein Reiz, gleich welcher Art, zu einer "vegetativen Gesamtumschaltung" des Organismus. Dabei tritt zuerst ein Sympathicotonus mit Fieber, Hypercalcaemie, Blutazidose, gesteigerten Grundumsatz und Leukozytose auf. Es folgt, nach Überwinden des Reizes, eine Phase mit gesteigertem Parasympathicotonus, bei der die anfänglichen Veränderungen wieder rückgängig gemacht werden. In konsequenter Fortführung dieser Vorstellungen konnte gezeigt werden, daß eine Leukozytose durch Reizung von Hirnarealen ausgelöst werden kann, die als vegetative Steuerungszentren gelten. So erzeugte ROSENOW durch Stiche in den Thalamus, das corpus striatum und den Hypothalamus eine Leukozytose. Ein isoliertes "Leukozytose-Zentrum" scheint aber nach den Hirnstichversuchen von HESS nicht zu bestehen. Durchschneidungsversuche im Halsmarkbereich (HOFF u. LINHARDT, KOMIYA) machten deutlich, daß intakte Nervenverbindungen zur Peripherie die Voraussetzung dafür sind, daß durch Reizstoffe eine Leukozytose ausgelöst werden kann. Die Durchschneidungsversuche von KOMIYA zeigten, daß die nervösen Verbindungen von den vegetativen Zentren über das Halsmark laufen, daß die für die Leukozytose wichtigen Fasern von DIII - LIII aus dem Rückenmark austreten und dann mit den nervi splanchnici über das ganglion coeliacum zu Leber und Milz laufen. Jedenfalls bleibt die Leukozytose nach Injektion von Typhusvakzine immer dann aus, wenn die o.a. Fasern durchtrennt sind. Aus dieser Verbindung zu Leber und Milz wird auch die Bedeutung dieser Organe für die Leukozytenregulation deutlich. Diese tierexperimentellen Versuche, die die zentralnervöse Steuerung der Zahl der weißen Blutkörperchen beweisen, entsprechen auch den klinischen Beobachtungen; nach direkter Alteration zentraler Zentren (Blutung in die Ventrikel, Luftfüllung der Ventrikel, auch subdurale Haematome) kann es nämlich zu Leukozytosen kommen (HOFF).

Eng verbunden mit der vegetativ-zentralnervösen Steuerung des weißen Blutbildes scheint eine humorale Beeinflussung der Leukozytenzahl zu sein. Parabioseversuche und Serumübertragungen von Versuchstieren, bei denen eine experimentelle Leukozytose erzeugt worden war, zeigen, daß im Blut Stoffe auftreten, die eine Leukozytose hervorrufen können (HAYASCHIDA, BEER, KOMIYA). Diese Stoffe wurden "Leukopoe-tine" genannt und sollen in der Leber gebildet werden (KOMIYA, BEER). Auch die Milz spielt bei der Regulation der Leukozytenzahl im peripheren Blut eine bedeutsame Rolle. Das zeigen die klinischen Beobachtungen einer Leukopenie bei Krankheiten mit großem, derben Milztumor (Tbc, Typhus, m. Gaucher- HEILMEYER) und die Leukozytosen nach Milzexstirpation (STREICHER, HEILMEYER, KRESTOW). Dabei scheint sich aber nach der Störung der Leukozytenregulation im Gefolge der Milzexstirpation nach einiger Zeit ein neues Gleichgewicht einzuspielen (HEILMEYER). Ob die Rolle der Milz tatsächlich darin besteht, daß sie einen Stoff bildet, der die Leukopoese hemmt, und der in der Leber weitgehend inaktiviert wird (BOCK u. FRENZEL, JOMBRES), ist dagegen bis heute ungeklärt (Zusammenfassung und Literatur bei HEILMEYER).

Nach den heute vorliegenden klinischen Beobachtungen und experimentellen Ergebnissen darf man sich vorstellen, daß bei der Regulierung der Leukozytenzahl im peripheren Blut zentralnervöse und humorale Einflüsse eng miteinander verzahnt sind. Neurale Impulse könnten - soweit sie nicht direkt zum Knochenmark gelangen, entsprechende Verbindungen hat BEER nachgewiesen, - die Produktion von Leukopoetinen und vielleicht auch von Hemmfaktoren beeinflussen und so indirekt auf das Knochenmark wirken. Bei der Produktion von Stoffen, die auf das Knochenmark wirken, scheinen Leber und Milz eine große Rolle zu spielen.

Die Leukozytose, die durch Reizstoffe (Pyripher, Typhusvakzine u.a.) hervorgerufen wird, erfolgt im Rahmen einer allgemeinen vegetativen Reaktion. Dabei löst der Reiz eine zentralnervöse Reaktion aus, die über die oben beschriebenen Bahnen und die Vermittlung humoraler Substanzen unter anderem zur Leukozytose führt.

2) Die Knochenmarkfunktionsprüfung nach MOESCHLIN.

MOESCHLIN hat auf Grund der Beobachtung, daß bestimmte Reizstoffe eine Leukozytose auslösen können, 1945 eine Methode zur Funktionsprüfung des Knochenmarks angegeben. Dazu wurden den Probanden nach Zählung der Leukozyten im Durchschnitt 25 E Pyrifer (in Einzelfällen bis 100 E) injiziert und die Leukozyten in bestimmten Zeitabständen nach der Injektion gezählt. Die Reaktion auf den Pyrifer-Reiz besteht typischerweise in einem leichten Abfall der Leukozytenwerte nach der Injektion, dann folgt eine "Ausschwemmungsphase", während der die Leukozyten deutlich ansteigen. Die höchsten Leukozytenzahlen wurden in der sogenannten "Produktionsphase", 3-6 Stunden nach der Pyrifergabe, bestimmt. Nach 8, spätestens jedoch nach 24 Stunden, sind die Leukozytenzahlen auf den Ausgangswert abgefallen. Während sich so typischerweise eine Kurve der Leukozytenzahlen mit einem Gipfelwert zwischen 3-6 Stunden ergibt, konnten auch, besonders bei Anwendung höherer Pyriferdosen, Bilder erhalten werden, die einen Abfall des 6-Stundenwertes unter den 4-Stundenwert und einen 2. Gipfel 8 Stunden nach der Belastung zeigen. Es ergibt sich so eine zweigipfelige Kurve mit einem ersten, höheren Anstieg nach 4 Stunden, einem Abfall der Leukozytenwerte nach 6 und einem zweiten, niedrigeren Gipfel nach 8 Stunden. Wie bei der eingipfligen "typischen" Kurve ist der Ausgangswert nach 24 Stunden wieder erreicht oder leicht unterschritten. Unter Normalbedingungen war dieses Verhalten (eingipflige oder seltene zweigipflige Kurve nach Pyriferreiz) jederzeit reproduzierbar. Nach MOESCHLIN handelt es sich bei dieser Reaktion um eine durch den Pyriferreiz auf das Zwischenhirn hervorgerufene Leukopoetin-Ausschüttung. Danach stellt die Reaktion auf Pyrifer nichts anderes dar als ein Ansprechen des Knochenmarks auf Leukopoetin.

Eine abgeschwächte oder fehlende Reaktion auf diesen Reiz ist somit auf eine Störung des leukopoetischen Systems zurückzuführen. Tatsächlich fand MOESCHLIN bei bestimmten Blutkrankheiten, unbehandelter Perniciosa, Panmyelophthisen, infektiös-toxischen Zuständen und neoplastischen Zerstörung des Knochenmarks eine deutlich abgeschwächte Reaktion. Man findet bei diesen Krankheitsbildern eine deutlich abgeflachte, ein- oder auch zweigipflige Kurve der Leukozytenzahlen.

Mit der Reaktion auf einen Pyriferreiz identisches Leukozytenverhalten zeigt sich auch nach anderen Reizsubstanzen (Rußsuspension, BLUMENCRON und BORKENSTEIN. Lipopolysaccharid aus Coli, WESTPHAL, KELLER, HEILMEYER).

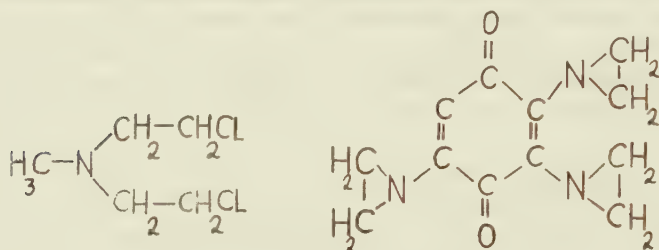
BORKENSTEIN hat gezeigt, daß auch bei normalen Leukozytenzahlen die Antwort auf einen Reiz, der das leukopoetische System beeinflußt, herabgesetzt sein kann.

Danach steht mit der Knochenmarkfunktionsprüfung durch Pyrifer oder andere ähnlich wirkende Substanzen eine Methode zur Verfügung, die es erlaubt, eine Schädigung des leukopoetischen Systems durch therapeutische oder andere Maßnahmen frühzeitig zu erfassen.

Auch bei Versuchstieren, z.B. Ratten, ist die Anwendung der Knochenmarkfunktionsprüfung mit Pyrifer nach MOESCHLIN durchführbar, wie KRESTOW, KIRMER, STREICHER et al. und EBERHARDT zeigen konnten. Bei Ratten zeigt sich nach der Injektion von 2-3 E Pyrifer ebenfalls ein charakteristisches Verhalten der Leukozytenwerte, initialer Abfall, deutlicher Anstieg mit einem Gipfel nach 4-6 Stunden und Zurückgehen auf den Ausgangswert, welches spätestens nach 24 Stunden erfolgt ist. Auch für Ratten gilt die von HEILMEYER aufgestellte Forderung, nach der eine ungehemmte Funktion des leukopoetischen Systems zu einem Anstieg der Leukozyten auf mindestens 124 % des Ausgangswertes erfolgen soll.

3) Chemisch-pharmakologische Eigenschaften und Anwendung von Trenimon ®¹⁾

Trenimon ® ist chemisch Trisaethyleniminobenzochinon



Stickstofflost

2, 3, 5 -Tris-aethylenimino-
benzochinon - (1, 4). (Trenimon ®)

Es vereinigt in einem Molekül 2 cytostatische Substanzen,
nämlich das Aethylenimin-Molekül - $\text{N} \begin{smallmatrix} \text{CH}_2 \\ | \\ \text{CH}_2 \end{smallmatrix}$ und den

Benzochinonring. Trenimon gehört damit zur Gruppe der
"alkylierenden Substanzen." Als alkylierende Substanz ist
Trisaethyleniminobenzochinon ein sog. "Radiomimeticum,"
d.h. ein Pharmakon, das sich auf die Zellteilung ähnlich
auswirkt wie ein Radioisotop. Dabei wird die Zellteilung
gehemmt durch einen Eingriff in das chemische Gefüge der
Zelle, der bereits während der Interphase, also vor Beginn
der eigentlichen Teilungsvorgänge, stattfindet (KUSCHINSKY
und LÜLLMANN). Die eigentliche Wirkungsgruppe, das $\text{N} \begin{smallmatrix} \text{CH}_2 \\ | \\ \text{CH}_2 \end{smallmatrix}$
zeichnet das Trenimon als Abkömmling des Stick-
stofflost aus. Nach BROCK und WILMANNs entsteht aus dem
Aethyleniminin in wässriger Lösung durch Ringaufspaltung
ein Carbenium-Kation nach folgender Formel.



Dieses ist chemisch hochaktiv. Es kann mit den Aminogruppen,

1) Trenimon ®; Warenzeichen der Firma Bayer AG., Leverkusen

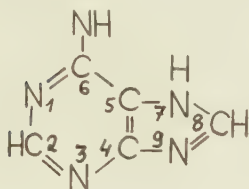
den Carboxyl- und Sulfhydril-Gruppen der Eiweiße sowie mit den Phosphatgruppen der Nukleinsäuren reagieren. Dadurch sind Vernetzungen und Makromolekülbildungen in der Zelle möglich (ROSS). Trenimon entfaltet experimentell bereits in niedrigen Konzentrationen meßbare Beeinflussungen des Stoffwechsels. Es wird angenommen, daß diese Wirkungen durch direkte Beeinflussung des Stoffwechsels zu Stande kommen (PÜTTER, STOTTER). Dafür spricht eine deutliche Hemmung der Glykolyse, die bei Ehrlich-Asciteszellen und Yoshidazellen bereits nach Konzentration in der Größenordnung 1 : 500 000 nachweisbar ist. Ursache dieser Glykolysehemmung scheint eine Erniedrigung des Gehalts der Tumorzellen an DPN zu sein (PÜTTER, KRÖGER). Daneben sprechen die Beobachtungen verschiedener Autoren dafür, daß unabhängig von dieser Beeinflussung des Energiestoffwechsels eine Hemmung des Tumorwachstums durch Trenimon bewirkt wird. Möglicherweise beruht sie auf einer direkten Einwirkung auf die Nucleinsäuren (RATHGEN und HUMKE, PÜTTER). Über die günstige Wirkung des Trenimon bei krebserkrankten Menschen liegen zahlreiche Veröffentlichungen vor (FRANZ et al., MEYTHALER et al. LINKE, LANGNICKEL, KLEIBEL, ADELBERGER und WÖRN, SCHNEIDER et al., SPIESSL, u.v.a.). Behandelt wurden sowohl Leukämie, Lymphosarkomatosen und Lymphogranulomatosen als auch Carzinome aller Lokalisationen. Bei letzteren erfolgte die Anwendung gewöhnlich in Kombination mit Operation und/oder Bestrahlung. Dabei wird immer wieder darauf hingewiesen, daß die Wirkung des Cytostatikum sich nicht nur auf die Tumorzellen, sondern auch auf alle schnellwachsenden Normalgewebe des Körpers erstreckt. So besteht die bedeutsame Nebenwirkung des Trenimon, wie praktisch aller Cytostatica, in einer Hemmung der Leukopoese. Nach Trenimon u.a. Cytostatica können immer wieder Leukozytenabstürze beobachtet werden. Nach DOMAGK kommt es bei jeder Cytostatikabehandlung darauf an, einen Mittelweg zu finden zwischen Beeinflussung des leukopoetischen Systems und einer sicheren Schädigung der Tumorzellen. Das anzustrebende Ziel bei der Cytostaticabehandlung des Krebses kann dabei nicht in einer Heilung, sondern nur darin bestehen, daß ein weiteres Tumorwachstum und die

Ausschwemmung von Krebszellen mit Metastasenbildung verhindert wird.

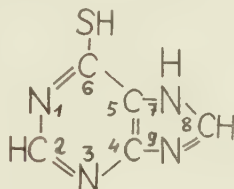
Speziell im chirurgischen Bereich wird eine kurze präoperative Trenimonbehandlung, Trenimongabe während der Operation des Carcinoms und dann eine langdauernde Nachbehandlung mit dem Cytostaticum empfohlen (SPIESSL, ADELBERGER und WÖRN, LANGNICKEL). Die in der Literatur empfohlene Dosierung beträgt 0,2 mg/Tag i.v. (STÖTTER, KRETZ, LANGNICKEL, ADELBERGER u.v.a.) bis zu einer Gesamtdosis von 3-5 mg (LINKE).

4) Chemische, pharmakologische Eigenschaften und Anwendung von Puri-Nethol [®] 1)

Puri-Nethol ist chemisch 6-Mercaptopurin



6-Aminopurin
Adenin



6-Mercaptopurin
Puri-Nethol [®]

Von der physiologischen Purinbase 6-Aminopurin (Adenin) unterscheidet es sich lediglich durch die -SH-Gruppe in Stellung 6. Durch diese enge chemische Verwandtschaft ist auch der Wirkungsmechanismus der Substanz gekennzeichnet. 6-Mercaptopurin zeigt eine Substratkonkurrenz zu Adenin und Hypoxanthin. Es hemmt so die Nucleinsäuresynthese der Zelle (ELLION et al. GOLDIN et al.). 6-Mercaptopurin gehört damit zu den sog. "Antimetaboliten" (KUSCHINSKY und LÜLLMANN). Nach WILMANN blockiert 6-Mercaptopurin die Neusynthese von Nucleinsäure dadurch, daß es das Ferment Tetrahydrofolat-Formylase hemmt. Voraussetzung für diese Blockierung ist es, daß 6-Mercaptopurin durch eine Pyrophosphorylase in die Ribotidform überführt wird. Der hemmende Effekt des 6-Mercaptopurin sowohl auf experimentelle Tumoren als auch auf menschliche Neoplasien ist nachgewiesen. (CLARKE et al., BURCHENAL et al.).

Die klinische Anwendung des Puri-Nethol erfolgt heute bevorzugt bei kindlichen Leukämien, vor allem bei den myeloidischen Formen, aber auch zur Hinauszögerung von Rezidiven nach Remissionen von lymphozytären und monozytären Formen

1) Puri-Nethol [®]: Warenzeichen der Firma BURROUGHS WELLCOME u. Co., London, für 6-Mercaptopurin. Deutscher Vertrieb - Dr. FRESENIUS KG.

durch Kortikosteroide (HUTH, KUSCHINSKY und LÜLLMANN).
Die übliche Dosierung beträgt 2,5 mg/kg Körpergewicht.
Die Dosis kann bei Bedarf gesteigert werden. Das Präparat ist nur oral anwendbar.

B.

FRAGESTELLUNG.

Der Leukozytenabfall im Verlauf einer cytostatischen Behandlung carcinomkranker Patienten ist bekannt (Zusammenfassung bei HEILMEYER). Cytostatica müssen in der prä-, intra- und postoperativen Behandlung von Carcinomkranken auch in einer chirurgischen Klinik angewendet werden. Beeinflussungen des leukopoetischen Systems sind natürlich bei Patienten, die dem z.T. erheblichen Operationsschock unterzogen werden mußten und zudem wegen des Grundleidens bereits unter einer Schwächung der allgemeinen Abwehrkräfte des Körpers leiden, besonders gefährlich. Es lag aus diesem Grund nahe, die Auswirkung verschiedener Cytostatica auf das leukopoetische System zu untersuchen. An Ratten sollte untersucht werden, ob das leukopoetische System nach kurz-dauernden Cytostatica-Gaben noch in der Lage ist, auf den Pyriferreiz zu antworten.

Speziell waren folgende Fragen zu beantworten.

- 1) Wie verhalten sich die Leukozyten bei unbehandelten Ratten?
- 2) Welche Pyriferdosis ruft bei Ratten eine typische Antwort der Leukozytenzahlen im Sinne von MOESCHLIN hervor?
- 3) Wie wird der Ausfall der Knochenmarkfunktionsprüfung durch vorherige Trenimon-Gabe beeinflusst?
- 4) Wie wird der Ausfall der Knochenmarkfunktionsprüfung durch vorherige Puri-Nethol-Gabe beeinflusst?

C.

MATERIAL UND METHODIK

Die Untersuchungen wurden an insgesamt 156 weiblichen Albinoratten mit einem Gewicht zwischen 240 und 350 g durchgeführt.

Jede Gruppe, an der ein Versuch durchgeführt wurde, umfaßte 5 Tiere, die durch verschiedene Farbmarken voneinander unterschieden wurden.

Als Fütterung bekamen die Tiere das handelsübliche Präparat Altromin R 15 ¹⁾ und Trinkwasser in beliebigen Mengen, dem von Zeit zu Zeit Vitamine zugesetzt wurden.

Obwohl nach COHRS et al. eine Verdauungsleukozytose bei der Ratte nicht vorkommt, wurde während der Knochenmarksfunktionsprüfung nach MOESCHLIN den Ratten das Futter entzogen, um eine eventuelle Veränderung des Leukozytenspiegels zu vermeiden. Um Störungen der Ergebnisse durch eventuelle tageszeitliche Schwankungen der Leukozytenzahl auszuschließen, wurden alle Pyrifer-Versuche morgens gegen 8⁰⁰ Uhr durchgeführt.

FARRIS und GRIFFITH gaben an, daß eine nur kurze Zeit dauernde Unruhe eine sofortige Leukozytose verursacht. Deshalb wurden die Tiere schonend behandelt und der Versuch erst nach ihrer Gewöhnung durchgeführt.

Zur Blutentnahme wurden die Ratten in einen ihrer Größe entsprechenden Käfig, aus dem der Schwanz durch eine Öffnung heraushing, gesperrt. Dadurch wurde eine sehr geringe Belästigung der Tiere durch Blutentnahme und Injektionen erreicht und die Versuche konnten pünktlich durchgeführt werden.

1) Altromin: ein Eiweiß, Fett und Kohlehydrat in ausgewogener Zusammenstellung enthaltendes Futter der Firma Altromin - GmbH, Lage/Lippe.

Das Blut für die Zählung der weißen Blutkörperchen wurde durch Kupieren der Schwanzspitze entnommen, wobei vor der Aufnahme mit der Blutmischpipette stets 1-2 Tropfen Blut verworfen wurden. Für jede Ratte wurde stets dieselbe Pipette zum Verdünnen des Blutes benutzt. Die Zählung der Leukozyten nach THOMA erfolgte jeweils in der gleichen Zählkammer.

Die Präparate (Pyrifer und Trenimon) infundiert man mit feiner Kanüle in die Schwanzvene. Es hat sich bewährt, den Schwanz vor der Injektion unmittelbar unter den Lichtstrahl einer starken Lampe zu legen, wobei die Vene besser in Erscheinung tritt.

Puri-Nethol (6-Mercaptopurin) ist ein schwerlösliches Präparat und nur in Form von Tabletten im Handel. Es wurde als Suspension in verdünntem Tragacantha-Schleim oral gegeben.

Zur exakten oralen Gabe des Puri-Nethol-Tragacantha-Schleims wurde den Ratten ein Magenschlauch gelegt. Dieser Schlauch war bereits mit dem Gemisch gefüllt. Mittels einer kalibrierten Spritze war nun die Überführung einer definierten Menge des Puri-Nethol-Tragacantha-Schleims in den Magen der Tiere möglich.

Die Leukozyten wurden unmittelbar vor jeder Pyrifer-Injektion bzw. den Gaben von Trenimon oder Puri-Nethol sowie 2, 4, 6, 8 und 24 Stunden nach Pyrifer-Injektion gezählt.

In Vorversuchen wurde zunächst die Reaktion der Ratten auf eine physiologische NaCl-Lösung (1,5 ml) sowie auf unterschiedliche Pyrifergaben untersucht.

Tabelle 1

Versuchsreihe Nr.	Medikament	Anzahl der Tiere
1	1,5 ml phys. NaCl	8
2	20 E Pyrifer	5
3	10 E Pyrifer	5
4	5 E Pyrifer	5
5	3 E Pyrifer	14
6	2 E Pyrifer	10
Zahl der Versuchstiere		47
		=====

In einer 2. Versuchsgruppe wurde den Tieren vor der Knochenmarkfunktionsprüfung mit 2 E bzw. 3 E Pyrifer Trenimon in verschiedener Dosierung entweder als Einzelgabe oder über mehrere Tage verteilt gegeben.

Tabelle 2

Versuchsreihe Nr.	Trenimon-Dosis	Art der Anwendung	Pyrifer-Menge	Anzahl der Tiere
1	0,2 mg/kg Körpergew.	Einzelgabe	2 E am 2. Versuchstage	5
2	0,2 mg/kg Körpergew.	Einzelgabe	3 E am 2. Versuchstage	5
3	0,3 mg/kg Körpergew.	Einzelgabe	2 E am 2. Versuchstage	5
4	0,3 mg/kg Körpergew.	Einzelgabe	3 E am 2. Versuchstage	5
5	0,3 mg/kg Körpergew.	Einzelgabe	3 E am 3. Versuchstage	5
6	0,2 mg/kg Körpergew.	verteilt auf 7 Tage	2 E am 8. Versuchstage	6
7	0,2 mg/kg Körpergew.	verteilt auf 7 Tage	3 E am 8. Versuchstage	5
8	0,2 mg/kg Körpergew.	verteilt auf 7 Tage	3 E am 9. Versuchstage	5
9	0,3 mg/kg Körpergew.	verteilt auf 7 Tage	2 E am 8. Versuchstage	5
10	0,3 mg/kg Körpergew.	verteilt auf 7 Tage	3 E am 8. Versuchstage	4
11	0,3 mg/kg Körpergew.	verteilt auf 7 Tage	3 E am 9. Versuchstage	5
Ges.-Zahl				55

In der 3. Versuchsgruppe wurde den Tieren vor der Knochenmarkfunktionsprüfung mit 3 E Pyrifer Puri-Nethol in verschiedener Dosierung entweder als Einzelgabe oder über mehrere Tage verteilt gegeben.

Tabelle 3

Versuchs- reihe Nr.	Puri-Nethol Dosis	Dauer der Anwendung	Gesamt- Dosis	Pyrifer- Menge	Zahl d. Tiere
1	2,5 mg/kg/die	35 Tage	87,5 mg/kg	3 E am 36. Tag	5
2	10 mg/kg/die	8 Tage	80 mg/kg	3 E am 9. Tag	10
3	16,7 mg/kg/ die	8 Tage	133,6 mg/kg	3 E am 9. Tag	10
4	133,6 mg/ kg/die	Einzel- gabe	133,6 mg/kg	3 E am 2. Tag	5
5	133,6 mg/ kg/die	Einzel- gabe	133,6 mg/kg	3 E am 3. Tag	5
6	32,25 mg/ kg/die	8 Tage	258 mg/kg	3 E am 9. Tag	9
7	258 mg/kg/die	Einzel- gabe	258 mg/kg	3 E am 2. Tag	5
8	200 mg/kg/die	Einzel- gabe	200 mg/kg	3 E am 3. Tag	5
Ges.-Zahl der Tiere					54 =====

Bei den hohen Puri-Nethol-Gaben sind insgesamt 9 Tiere vor Beendigung des Versuchs gestorben; die endgültige Auswertung bezieht sich demnach hier nur auf 45 Ratten.

L

VERSUCHSERGEBNISSE

1) Vorversuche

a) Reaktion der Leukozytenzahl auf Injektion von NaCl-Lösung.

8 Ratten wurde Blut zur Leukozytenzählung entnommen (Leerwert). Anschließend wurde den Tieren 1,5 ml physiologische Kochsalzlösung injiziert. Die Leukozyten wurden 2, 4, 6, 8 und 24 Stunden nach der Injektion gezählt. Die Ergebnisse zeigt Tabelle 4.

Tabelle 4

Tier Nr.	1a	1b	1c	1d	1e	1f	1g	1h
Leerwert	8500	8800	9000	45000	25900	20500	10600	14600
2 h	8000	9000	11800	44300	-	-	-	-
4 h	9400	8800	11800	42600	22400	19400	14700	16500
6 h	9600	9200	12700	40800	22200	15400	15900	15400
8 h	9600	9300	11300	41300	16200	17800	11700	13900
24 h	6200	9100	9900	44800	-	-	-	-
M.W.	8600	9033	11083	43133	21675	18275	13225	15100

Tabelle 4: Leukozytenwerte bei 8 Ratten vor und nach Injektion von 1,5 ml physiologische NaCl-Lösung.

Die Ratten a-c zeigen Leukozytenzahlen um $9000/\text{mm}^3$. Nach der NaCl-Injektion treten Schwankungen auf, die diesen Wert um 5-20 % über- oder unterschreiten können. Bei den Tieren e-h (bei denen aus technischen Gründen die Abnahme des 2 h und 24 h - Wertes nicht erfolgen konnte) liegen die Leukozytenzahlen zwischen 10000 und 25000. Auch hier zeigen sich, ohne sonstige Manipulationen, nach der Kochsalzinjektion deutliche, aber uncharakteristische Schwankungen der Leukozytenzahlen. Derartige, sicher tageszeitlich bedingte Schwankungen der Leukozytenzahlen, sind in der Literatur mehrfach beschrieben. Auch außergewöhnlich hohe Leukozyten-

zahlen, wie sie bei uns Tier 1d zeigt, sind aus der Literatur bekannt (FARRIS und GRIFFITH, TYLOR, KLINEBERGER, WIRTH, HERMER). Die Ergebnisse zeigen also recht deutliche, aber

stark uncharakteristische Schwankungen der Leukozytenzahlen nach NaCl-Injektion. Außerdem können bei Ratten die Leukozytenzahlen stark unterschiedlich sein. Daraus ergibt sich die Notwendigkeit, vor jedem Versuch die Leukozytenzahlen zu bestimmen. Die höchste Leukozytenzahl in dieser Gruppe betrug 44800 (Tier 1d), die niedrigste 6200. In Übereinstimmung mit Literaturangaben (Zusammenfassung bei COHRS, JAFFE und MEESSEN) dürfen demnach Leukozytenwerte unter 5000 als unternormal angesehen werden.

b) Reaktion auf unterschiedliche Pyrifergaben.

aa) Reaktion auf 20 E Pyrifer.

Bei 5 Ratten wurden die Leukozyten gezählt und anschließend 20 E Pyrifer injiziert. Die Leukozytenkontrollen erfolgten 2, 4, 6, 8 und 24 h nach der Pyriferinjektion. Die Ergebnisse zeigt Tabelle 5.

Tabelle 5

Tier Nr.	2a	2b	2c	2d	2e	M.W.
Leerwert	23800	14000	12900	24100	13600	17680
2 h	29800	14000	23900	27900	15300	22180
4 h	11400	16500	20000	32400	16300	19320
6 h	29400	17800	16300	28600	16400	21700
8 h	25300	21400	22800	34400	13700	23520
24 h	26000	21400	11400	32300	19400	22100

Tabelle 5: Leukozytenzahlen vor sowie 2, 4, 6, 8 und 24 h nach Injektion von 20 E Pyrifer bei 5 Ratten.

Die Tiere 2b-2e zeigen nach der Pyrifer-Injektion einen deutlichen Anstieg der Leukozytenzahlen. Auch nach 24 Stunden liegen die Leukozytenwerte noch deutlich über dem Ausgangswert (Abbildung 5). Lediglich Tier 2a zeigt keine deutliche Reaktion auf den Pyriferreiz.

bb) Reaktion auf 10 E Pyrifer.

Nach Abnahme eines Leerwertes wurden 5 Ratten je 10 E Pyrifer injiziert und die Leukozytenzahlen nach 2, 4, 6, 8 und 24 h bestimmt. Die Ergebnisse zeigt Tabelle 6.

Tabelle 6

Tier Nr.	3a	3b	3c	3d	3e	M.W.
Leerwert	14100	16800	9700	31200	12800	16920
2 h	19200	16900	12400	36000	17000	20300
4 h	21400	22400	14600	38000	16350	22550
6 h	12850	23600	28700	54000	17100	27250
8 h	14600	19900	14500	55720	17700	24484
24 h	17300	24600	15100	69000	13700	27940

Tabelle 6: Leukozytenzahlen von 5 Ratten vor und 2, 4, 6, 8 sowie 24 h nach Injektion von 10 E Pyrifer.

Bei allen Ratten findet sich eine Reaktion, die nach 24 Stunden noch nicht abgeklungen ist. Die Tiere 3a und 3e zeigen nach 24 Stunden eine Näherung an den Ausgangswert; immerhin liegen die Leukozyten, im Gegensatz zum Verhalten nach der reinen NaCl-Injektion, um 3200 (Tier 3a) bzw. 900 (Tier 3e) über dem Leerwert. Die Kurve der Mittelwerte zeigt Abbildung 5.

cc) Reaktion auf 5 E Pyrifer.

Bei 5 Ratten wurde nach Abnahme des Leerwertes die Reaktion auf 5 E Pyrifer geprüft. Die Ergebnisse zeigt Tabelle 7.

Tabelle 7

Tier Nr.	4a	4b	4c	4d	4e	M.W.
Leerwert	15720	11800	16500	5900	12200	12424
2 h	13300	10700	17200	6750	9350	11460
4 h	18900	12500	16800	9500	10600	13660
6 h	17600	11900	12600	6800	18400	13460
8 h	12600	12400	17500	10600	20000	14620
24 h	13300	12500	20930	8900	14800	14086

Tabelle 7: Verhalten der Leukozyten bei 5 Ratten vor sowie 2, 4, 6, 8 und 24 h nach Injektion von 5 E Pyrifer.

In dieser Versuchsgruppe zeigt das Tier 4a mit initialem Abfall der Leukozytenzahl, dem Gipfel zwischen der 4. und 6. Stunde und dem nach der 8. Stunde bereits deutlichen, nach 24 Stunden abgeschlossenen Abfall zum Ausgangswert eine typische Reaktion im Sinne MOESCHLINs. Annähernd typisch, aber mit nach 24 Stunden noch deutlich erhöhter Leukozytenzahl, reagiert 4e. Die Reaktionen der übrigen Tiere entsprechen nicht dem nach MOESCHLIN zu fordernden Bild. Entsprechend zeigt die Mittelwertkurve zwar bereits einen leichten Leukozytenabfall nach der Pyrifer-Injektion, aber der Gipfel zwischen der 4. und 6. Stunde und der Abfall nach 8-24 Stunden bleiben aus. Der 24 h-Wert ist im Gegenteil noch deutlich gegenüber dem Leerwert erhöht (Abb. 1).

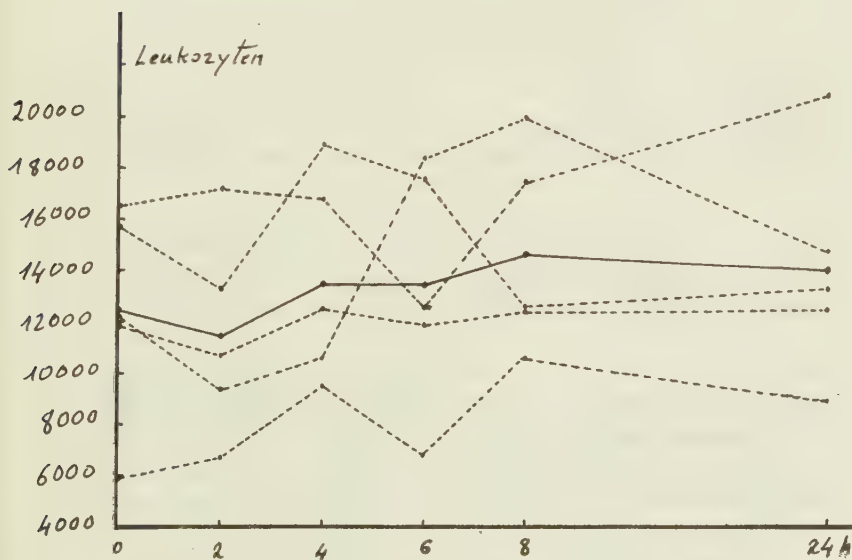


Abb. 1: Graphische Darstellung des Verhaltens der Leukozytenzahlen bei 5 Ratten nach 5 E Pyrifer, Mittelwert ausgezogen.

dd) Reaktion auf 3 E Pyrifer.

Nachdem sich bei den ersten 5 Tieren dieser Gruppe nach 3 E Pyrifer klassische Reizantworten gezeigt hatten, wurden insgesamt 14 Ratten in diese Gruppe aufgenommen (Eines der ursprünglich vorgesehenen 15 Tiere war noch vor der Pyriferinjektion im Käfig verendet). Die Leukozytenzahlen bei 14 Ratten vor sowie 2, 4, 6, 8 und 24 Stunden nach Injektion von 3 E Pyrifer zeigt Tabelle 8.

Tabelle 8

Tier Nr.	5a	5b	5c	5d	5e	5f	5g
Leerwert	19400	14000	15300	26000	38100	13700	14000
2 h	18900	23500	22100	30200	34700	13400	12100
4 h	21200	30500	26400	37000	46600	17400	16500
6 h	20800	25000	32900	30800	37100	15500	15400
8 h	10400	18600	14500	21500	33100	12600	12000
24 h	13900	17000	9100	14700	34200	14100	12300

Fortsetzung Tabelle 8

Tier Nr.	5h	5i	5k	5l	5m	5n	5o
Leerwert	17100	9400	11900	13900	35700	18400	9900
2 h	19100	10600	13000	13600	36100	17300	7100
4 h	21600	19500	21500	21600	41700	27100	11700
6 h	19000	16000	17400	10800	41900	18800	11400
8 h	18800	20600	20000	17900	42000	19600	8600
24 h	17500	12700	14200	14300	31100	17300	7800

Tabelle 8:

Leukozytenzahlen bei

M.W. der Änderung in %
Leukozyten gegenüber dem
Leerwert

14 Ratten vor sowie	Leerwert	18342	100 %
2, 4, 6, 8 und 24 h	2 h	19407	106 %
nach Injektion von	4 h	25735	140 %
3 E Pyrifer. Berech-	6 h	22342	122 %
nung des Mittelwertes	8 h	19300	105 %
für die einzelnen	24 h	16442	90 %
Stunden und die Angabe			
dieser Mittelwerte			
in Prozent des Leerwertes.			

Auf den Reiz mit 3 E Pyrifer zeigen alle Ratten eine deutliche Reaktion. Die Mittelwerte zeigen keinen initialen Abfall, aber einen deutlichen Gipfel zwischen der 4. und 6. Stunde, der von einer Näherung zur Norm nach der 8. Stunde gefolgt ist. Nach 24 Stunden ist der Ausgangswert erreicht bzw. unterschritten. (Graphische Darstellung in Abb. 2). Betrachtet man aber das Verhalten der einzelnen Tiere, so zeigen sich Unterschiede: Initialen Abfall der Leukozyten zeigen mit einem 2-Stundenwert, der um 1100-4000 Leukozyten/mm³ unter dem Leerwert liegt, die Tiere 5e, 5g, 5n und 5o. Bei den restlichen 10 Tieren sind die Leukozyten zwei Stunden nach der Injektion entweder konstant geblieben (5a, 5f, 5i, 5l) oder bereits leicht angestiegen. 7 Tiere (5a, 5c, 5d, 5e, 5f, 5g, 5o) zeigen nun einen Leukozytenanstieg mit einem einzigen Gipfel nach 4-6 Stunden. Anschließend fallen die Leukozyten ab. Nach 8 Stunden liegen die Werte um 1100-9000 Leukozyten/mm³ unter der Vergleichszahl vor der Pyriferinjektion. Der 24-Stundenwert liegt wieder höher und erreicht etwa den Leerwert. Die Reaktion der Tiere 5b, 5h und 5m besteht ebenfalls in einem Anstieg mit Gipfel nach 4-6 Stunden. Nach 8 Stunden liegen die Leukozyten aber noch deutlich über dem Leerwert (um 4600, 1700 bzw. 6300 Leukozyten/mm³), der erst nach 24 Stunden annähernd erreicht wird.

Im Gegensatz zu dieser eingipfligen Reaktion von 10 Tieren zeigt sich bei 5i, 5k, 5l und 5n eine zweigipflige Kurve der Leukozytenwerte. Bei diesen Tieren steigen die Leukozyten nach 2 Stunden leicht, nach 4 Stunden deutlich an. Im Gegensatz zu den vorbeschriebenen Kurven erfolgt nun aber nach 6 Stunden ein Leukozytenabfall (um 3500, 4100, 11200 bzw. 8300 Zellen/mm³). Der 8-Stundenwert zeigt wieder einen Anstieg der Leukozyten; allerdings wird die Höhe des 4-Stundenwertes nicht wieder erreicht. Wie bei den beiden Typen der eingipfligen Kurve sind auch beim zweigipfligen Verlauf nach 24 Stunden die Werte vor Pyrifer-Injektion annähernd wieder erreicht.

Somit kann ein Reiz mit 3 E Pyrifer bei der Ratte 3 verschiedene Reaktionen hervorrufen (s. Abb. 2).

- I Eingipfliger Typ : ein Gipfel nach 4-6 Stunden.
Abfall unter den Leerwert nach 8 Stunden.
Anstieg zum Leerwert nach 24 Stunden.
- II Eingipfliger Typ : ein Gipfel nach 4-6 Stunden.
Nach 8 Stunden Leukozyten deutlich über dem Leerwert.
Nach 24 Stunden ist der Leerwert erreicht.
- III Zweigipfliger Typ : Erster Anstieg der Leukozyten nach 4 Stunden.
Nach 6 Stunden deutlicher Abfall unter den 4-Stundenwert.
Nach 8 Stunden erneuter, kleiner Anstieg.
Nach 24 Stunden Näherung an den Ausgangswert.

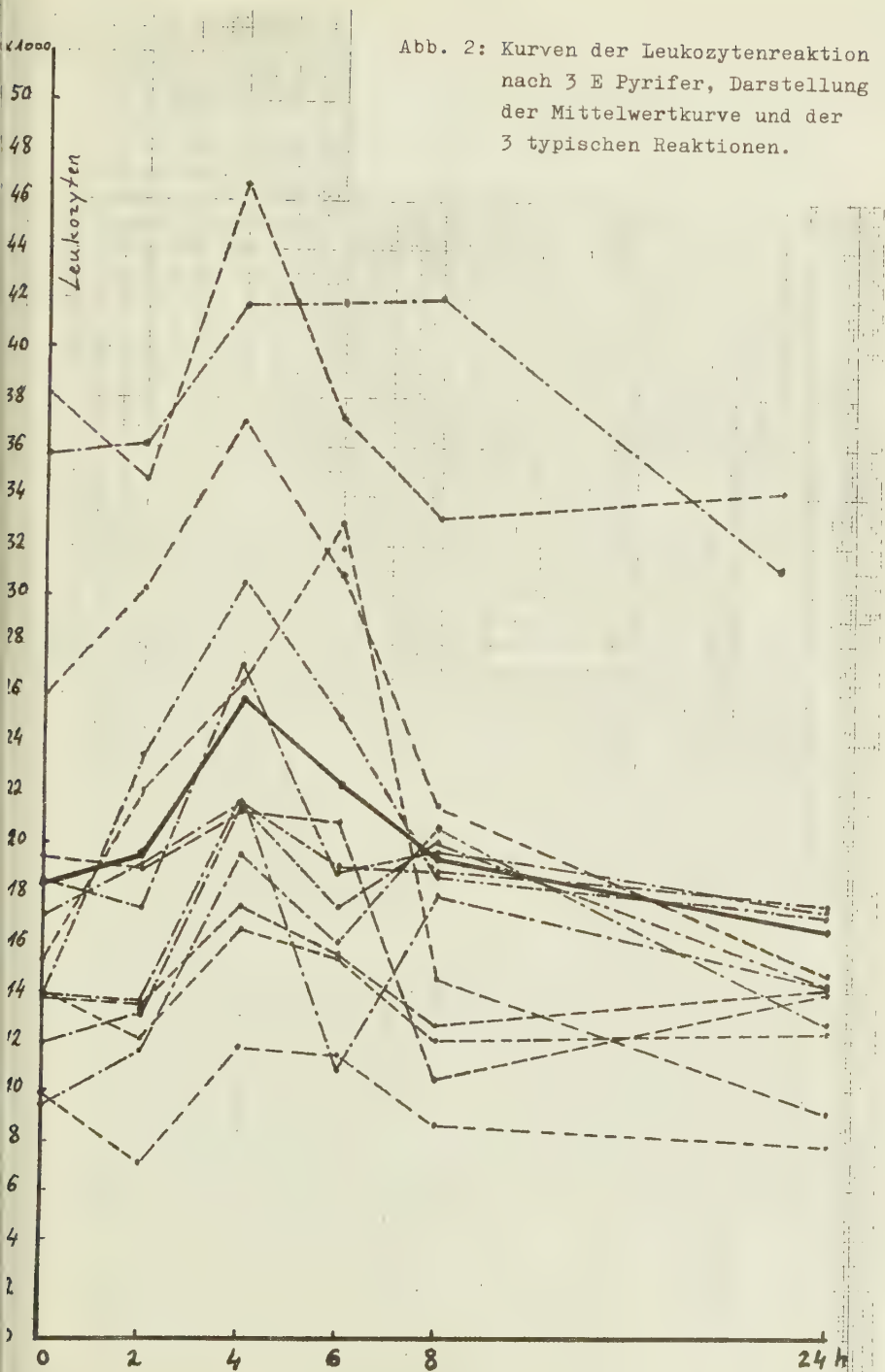
ee) Reaktion auf 2 E Pyrifer.

Injiziert man Ratten nach Abnahme des Leerwertes 2 E Pyrifer, so zeigen die Leukozytenwerte nach 2, 4, 6, 8 und 24 Stunden ein typisches Verhalten mit initialem Abfall, Gipfel zwischen der 4.-6. Stunde und Abfall nach der 8.-24. Stunde. Die Ergebnisse von 10 Tieren zeigt Tabelle 9.

Tabelle 9

Tier Nr.	6a	6b	6c	6d	6e	6f	6g
Leerwert	13400	7800	9800	17200	19300	15700	11400
2 h	-	11300	16000	16100	24100	22100	17800
4 h	26300	15200	10100	35400	17500	32800	15100
6 h	18500	17600	25000	28700	12900	28200	13300
8 h	25800	18600	18000	14800	10900	25300	14600
24 h	8700	10900	11000	22000	15700	19900	12000

Abb. 2: Kurven der Leukozytenreaktion nach 3 E Pyripher, Darstellung der Mittelwertkurve und der 3 typischen Reaktionen.



Fortsetzung Tabelle 9

Tier Nr.	6h	6i	6k	M.W.	M.W. in % des Leerw.
Leerwert	18300	20100	12300	14530	100 %
2 h	13600	21000	12900	17211	118 %
4 h	25700	22800	15600	21650	149 %
6 h	18900	20000	16300	19940	137 %
8 h	19400	14500	15500	17740	122 %
24 h	19300	16500	8750	14475	99 %

Tabelle 9 : Reaktion der Leukozytenzahlen von 10 Ratten auf Injektion von 2 E Pyrifer 2, 4, 6, 8 und 24 Stunden nach der Injektion. Angegeben sind die Mittelwerte und die prozentualen Änderungen gegenüber dem Leerwert (= 100 %).

Die Durchschnittswerte der 10 Ratten, denen 2 E Pyrifer injiziert wurde, zeigen ein klassisches Verhalten im Sinne der MOESCHLIN'schen Versuche (Abb. 3).

Auf den Reiz mit 2 E Pyrifer reagieren alle Ratten gut. Unabhängig vom Ausgangswert steigen die Leukozyten nach der Pyriferinjektion an und erreichen einen Gipfel in der 4. Stunde. Nach 6 und 8 Stunden sind die Werte bereits abgefallen, nach 24 Stunden ist in der Regel (7 von 10 Tieren) der Ausgangswert erreicht oder unterschritten; nur die Tiere 6b, 6d und 6f zeigen Leukozytenzahlen, die um etwa $3000/\text{mm}^3$ über dem Leerwert liegen. Wichtig erscheint, daß der initiale Leukozytenabfall bei 8 von 10 Tieren nicht nachweisbar ist; er tritt nur bei den Ratten 6d und 6h auf. Wir nehmen an, daß der initiale Leukozytenabfall bei Blutabnahme erst 2 Stunden nach der Pyrifer-Injektion nicht mehr erfaßt, sondern bereits durch den Leukozytenanstieg der beginnenden Ausschwemmungsphase überdeckt wird. 7 Tiere zeigen eingipflige Kurven (Maximum der Leukozyten nach 4 Stunden), bei 2 Tieren (6g, 6h) liegt der 8-Stundenwert nahe dem 6-Stundenwert, das Tier 6a zeigt die bereits früher beschriebene zweigipflige Kurve mit einem 8-Stundenwert höher als der 6-Stundenwert.

In Abb. 3 ist das Verhalten der Mittelwerte aller Versuche nach 2 E Pyrifer dargestellt. Weiterhin ist eine typische eingipflige und typische zweigipflige Kurve aufgetragen.

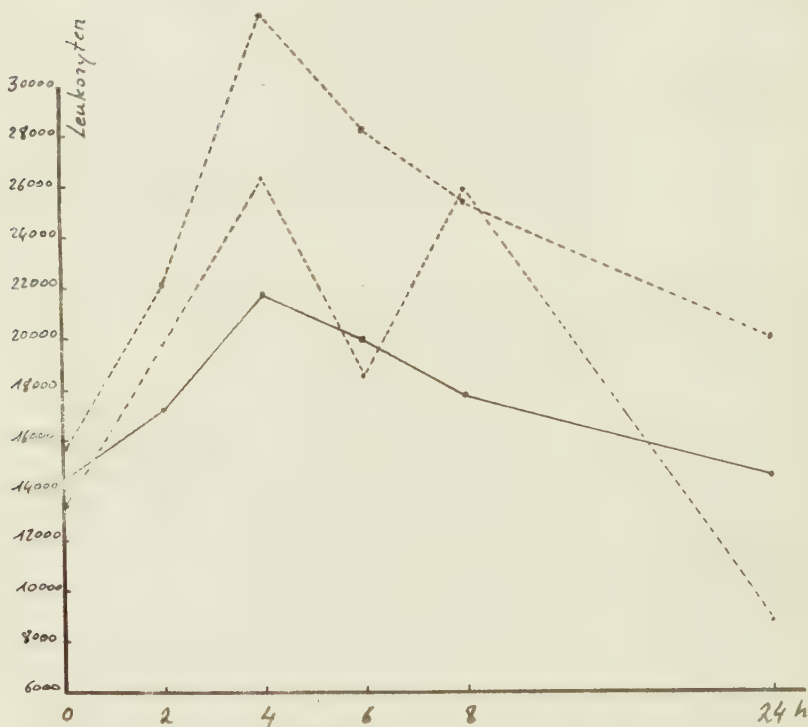


Abb. 3 : Verhalten der Leukozytenzahlen nach 2 E Pyrifer. Mittelwertkurve von 10 Tieren, typischer eingipfliger Verlauf (6f) und zweigipflige Form (6a).

Es hat sich bewährt, die Veränderungen der Leukozytenzahlen nach Pyrifer-Injektion in Zahlenrelationen auszudrücken. Dabei wird der Leerwert gleich 100 % gesetzt, und die Werte nach dem Pyriferreiz werden darauf bezogen (Abb. 4).

% der Ausgangswerte

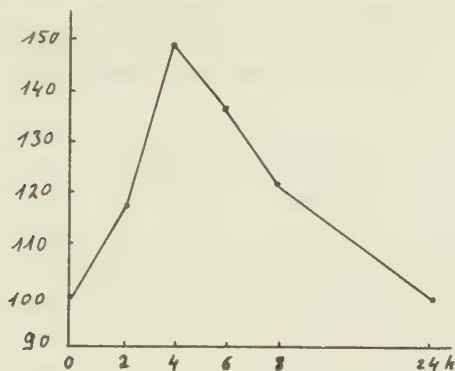


Abb. 4 : Prozentuale Änderung der Mittelwerte der Leukozytenzahlen von 10 Ratten nach Injektion von 2 E Pyrifer.

Die Ergebnisse der Belastung mit Pyrifer-Dosen zwischen 2 E und 20 E zeigen, daß eine typische Antwort auf den Pyriferreiz mit Dosen von 2-3 E zu erzielen ist (Abb. 5). Bei Ratten besteht die Antwort auf einen Reiz mit 2-3 E Pyrifer in einem Leukozytenanstieg bis zur 4. Stunde, dem dann ein langsamer Abfall folgt. Einzelne Tiere zeigen aber nach 8 Stunden einen erneuten, kleinen Anstieg der Leukozyten. Sowohl die häufige eingipflige als auch die seltene zweigipflige Kurve der Leukozytenzahlen entspricht den von MOESCHLIN am Menschen erhobenen Befunden. Beide Kurvenbilder sind als typische Reizantwort anzusehen. Auf alle Fälle folgt dem ein- oder zweigipfligen Leukozytenanstieg ein Abfall auf oder unter den Ausgangswert. Im Durchschnitt steigen die Leukozyten nach 3 E Pyrifer auf 140 % (minimal 109, maximal 217 %) des Ausgangswertes nach 4 Stunden an. Die Injektion von 2 E Pyrifer bringt einen mittleren Anstieg des 4-Stundenwertes auf 149 % (minimal 103, maximal 208 %) des Ausgangswertes

Bei den folgenden Untersuchungen der Veränderung der Knochenmarkfunktion durch Trenimon und Puri-Nethol wurden als Testdosis 2 E oder 3 E Pyrifer benutzt. Nach den Vorversuchen ist das Ansprechen der Ratten auf diese Dosen annähernd gleich.

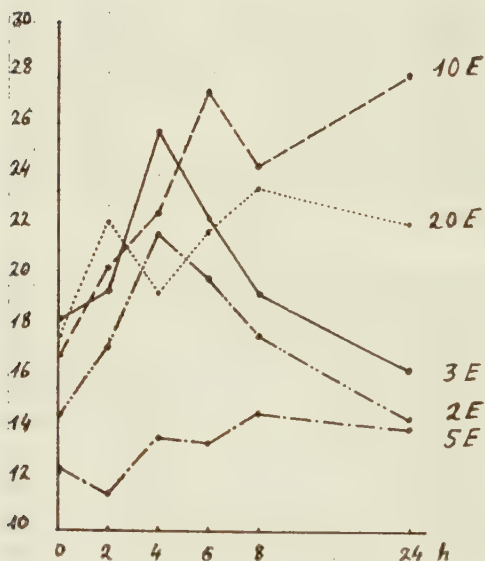


Abb. 5 : Dargestellt ist das Verhalten der Leukozytenzahlen 2, 4, 6, 8 und 24 Stunden nach unterschiedlichen Pyriferinjektionen (2-20 E). Kurven der Mittelwerte von 5 (20, 10, 5 E Pyrifer), 14 (3 E Pyrifer) bzw. 10 (2 E Pyrifer) Tieren. Nur die Injektion von 2 oder 3 E Pyrifer ergibt einen typischen Kurvenverlauf im Sinne MOESCHLIN's.

2) Versuche nach Trenimon-Gaben.

Die Auswirkung von unterschiedlichen Trenimon-Gaben auf die Knochenmarkfunktionsprüfung nach MOESCHLIN bei Ratten.

In verschiedenen Versuchsgruppen wurde insgesamt 55 Ratten vor Durchführung des Pyrifertestes Trenimon injiziert. Trenimon wurde dabei so verdünnt, daß die erforderliche Dosis in 3-4 ml physiologischer Kochsalzlösung injiziert werden konnte. Dadurch werden Verfälschungen der Ergebnisse durch zu große Flüssigkeitsbelastungen der Tiere vermieden. Die Ergebnisse werden in Tabellen wiedergegeben. Dabei werden jeweils die Absolutwerte, deren Mittelwerte in jeder Gruppe und die Abweichungen in % gegenüber dem Leukozytenwert, vor der Trenimon-Gabe dargestellt.

aa) 5 Ratten erhielten nach Abnahme des Leukozytenwertes je 0,2 mg Trenimon pro kg Körpergewicht als Einzelgabe. Der Knochenmarkfunktionstest wurde 24 Stunden später mit 2 E Pyrif, wie vorstehend beschrieben, durchgeführt. Die Ergebnisse zeigt Tabelle 10.

Tabelle 10

Tier Nr.	7a	7b	7c	7d	7e	M.W.	% der Leuko- koz. v. Wert v. Tren.G.
v. Trenimon	25450	20900	9500	19750	11400	17400	100 %
24 h n. Tren.							
0 h v. 2 E							
Pyrif	12650	9500	4400	10950	6600	8820	50,5 %
2 h n. 2 E							
Pyrif	13950	8200	5600	10200	11800	9950	57 %
4 h n. 2 E							
Pyrif	9500	9650	5200	11300	7100	8550	49 %
6 h n. 2 E							
Pyrif	8650	9600	4100	10600	11600	8910	51 %
8 h n. 2 E							
Pyrif	7800	6600	6150	11300	8500	8070	46 %
24 h n. 2 E							
Pyrif	5400	2500	2400	3600	5300	3840	26 %

Tabelle 10 : Leukozytenzahlen des Pyrifertestes bei 5 Ratten nach Trenimonstoß (0,2 mg/kg) mit Angaben des Mittelwertes (M.W.) und der prozentuale Wert der Leukozyten vom Wert vor Trenimon.

24 Stunden nach dem Trenimonstoß sind die Leukozytenzahlen bei allen Ratten deutlich abgefallen; der durchschnittliche Abfall beträgt 8580 Leukozyten / mm³, sie liegen damit um 49,5 % unter dem Wert vor Trenimongabe. Auf den Pyrifereiz zeigt nur Tier 7e eine mäßige Reaktion. Bei allen anderen Tieren sinken die Leukozyten auch nach dem Pyrifereiz ab. Bei allen Tieren liegen die Leukozytenzahlen 24 Stunden nach Pyrifergabe deutlich unter dem Wert vor der Testinjektion. Die graphische Darstellung der Mittelwerte der Leukozytenzahlen vor Trenimongabe und bei dem anschließenden Pyrifertest (Abb. 6) zeigt eine ganz flache, auf den 24-Stundenwert hin deutlich abfallende Kurve. Die Vorbehandlung mit 0,2 mg Trenimon / kg Körpergewicht hat die Antwort auf die Pyrifergabe (2 E) völlig unterbunden.

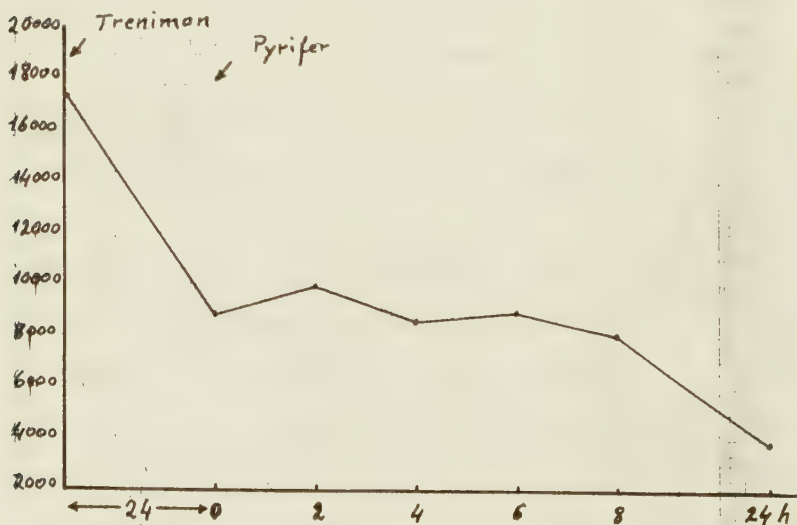


Abb. 6 : Mittelwert der Leukozytenzahlen bei 5 Ratten
vor Trenimongabe (0,2 mg/kg) und beim 24 Stunden
später erfolgten Test mit 2 E Pyrifer.

bb) 5 Ratten erhielten nach Abnahme des Leukozyten-Leerwertes 0,2 mg Trenimon / kg Körpergewicht. 24 Stunden später wurde die Knochenmarkfunktionsprüfung mit 3 E Pyrifer durchgeführt. Tabelle 11 zeigt die Ergebnisse. 24 Stunden nach der Trenimongabe sind die Leukozyten auf 68 % des Ausgangswertes, im Durchschnitt 5300 Leuco/mm³, abgefallen. Der Testreiz von 3 E Pyrifer vermag es nicht, den weiteren Abfall der Leukozyten aufzuhalten. Bei den Tieren 8b, 8c und 8d erzwingt der Pyriferreiz noch einen leichten Anstieg der Leukozyten um 2000-3000/mm³. Alle 24-Stundenwerte aber liegen deutlich unter dem Wert vor der Pyriferinjektion.

Tabelle 11

Tier Nr.	8a	8b	8c	8d	8e	M.W.	% d. Leuk. v. Wert vor Trenimong.
vor Trenimon	16100	15500	14100	15900	22700	16860	100 %
24 h n. Treni.							
0 h v. Pyrifer	11200	7900	11700	12400	14400	11550	68 %
2 h n. 3 E Pyrifer	9100	5400	5000	12700	10300	8500	50 %
4 h n. 3 E Pyrifer	9100	8900	14100	12700	11100	11180	66 %
6 h n. 3 E Pyrifer	7400	10300	6500	14100	11700	10000	59 %
8 h n. 3 E Pyrifer	5800	10400	10400	9900	9400	9180	54 %
24 h n. 3 E Pyrifer	2000	7200	8600	6200	9200	6640	39 %

Tabelle 11 : Leukozyten bei 5 Ratten vor und nach einmaliger
Gabe von 0,2 mg Trenimon / kg Körpergewicht und
Knochenmarkfunktionsprüfung mit 3 E Pyrifer
24 Stunden nach Trenimoninjektion.

Die graphische Darstellung in Abb. 7 veranschaulicht den Abfall der Leukozyten nach Trenimongabe und das deutlich verminderte Ansprechen auf 3 E Pyrifer. Im Gegensatz zum Verhalten nach 2 E Pyrifer läßt sich jedoch durch 3 E Pyrifer noch eine leichte Reaktion des 4-Stundenwertes hervorrufen.

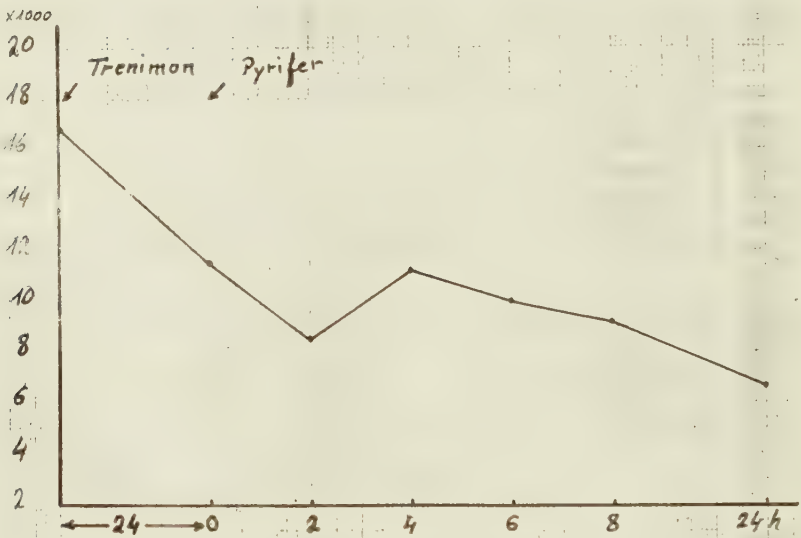


Abb. 7 : Mittelwert der Leukozytenzahlen von 5 Ratten vor und nach einer Einzeldosis von 0,2 mg Trenimon pro kg Körpergewicht und bei dem Pyrifer test mit 3 E 24 Stunden nach der Trenimoninjektion.

cc) Die Ergebnisse analoger Untersuchungen an 5 Ratten, die als Einzeldosis 0,3 mg Trenimon / kg Körpergewicht erhielten und bei denen anschließend der Pyrifertest mit 2 E durchgeführt wurde, zeigt Tabelle 12.

Tabelle 12

Tier Nr.	9a	9b	9c	9d	9e	M.W.	Abw.des Mittelw. in % des Ausg.W.
vor Trenimon	16200	10100	24100	17150	31500	19810	100 %
24 h n. Treni.							
0 h vor 2 E							
Pyripher	6500	7500	9100	6500	5600	7040	35,5 %
2 h n. 2 E							
Pyripher	9100	6150	12700	6300	8100	8470	42,5 %
4 h n. 2 E							
Pyripher	9500	6600	8100	6000	8200	7680	38,5 %
6 h n. 2 E							
Pyripher	10100	5200	10000	6500	7800	7920	40 %
8 h n. 2 E							
Pyripher	7000	4300	8100	6000	6440	6368	32 %
24 h n. 2 E							
Pyripher	4150	2750	2050	2600	6300	3570	18 %

Tabelle 12 : Leukozyten bei 5 Ratten vor und nach einmaliger Trenimongabe von 0,3 mg / kg Körpergewicht und Knochenmarkfunktionsprüfung mit 2 E Pyripher nach 24 Stunden nach Trenimoninjektion.

Nach 0,3 mg Trenimon / kg Körpergewicht fällt der Leukozytenwert deutlich, im Mittel auf 35 % des Ausgangswertes, ab. Immerhin erzwingt der Pyripherreiz 24 Stunden nach Trenimongabe bei den Tieren 9a, 9c und 9e noch einen leichten Leukozytenanstieg für 4-6 Stunden. Danach kommt es aber zu einem weiteren starken Abfall der Leukozytenzahlen, die nach 24 Stunden bei 4 von 5 Tieren eindeutig subnormal sind. Die Kurven bei den drei Tieren, die noch auf Pyripher reagieren, sind außerdem deutlich abgeflacht. 2 Ratten zeigen keinerlei Reaktion auf den Testreiz (Abb. 8).

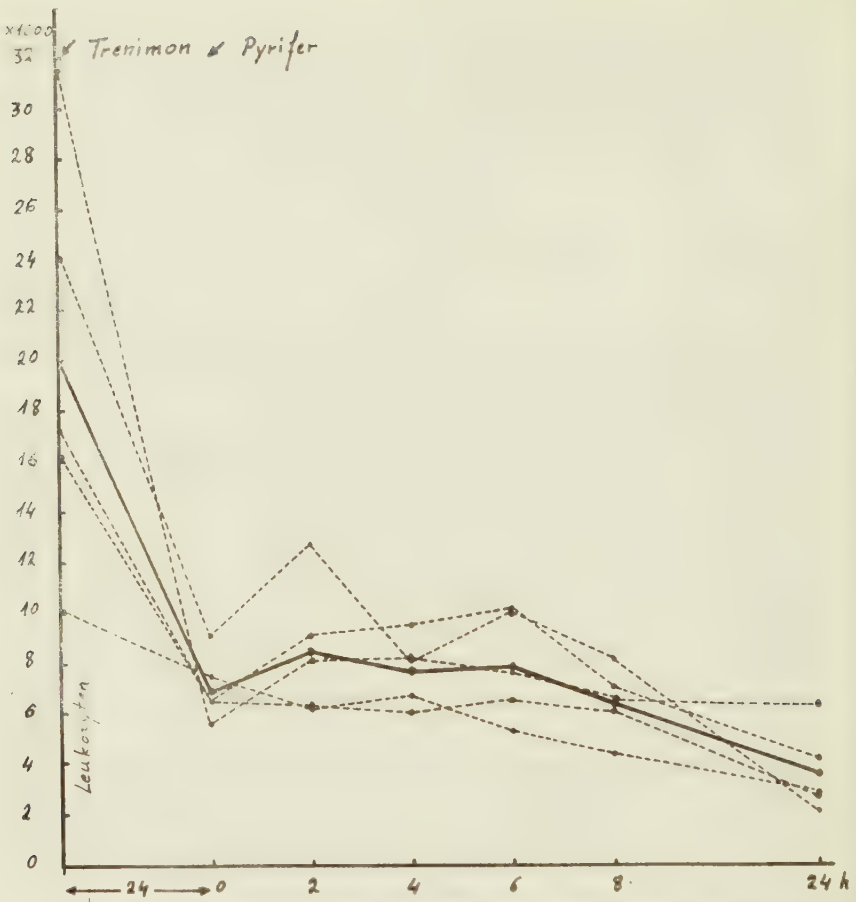


Abb. 8 : Leukozytenabfall 24 Stunden nach einer Einzeldosis von 0,3 mg Trenimon / kg Körpergewicht bei 5 Ratten und Verhalten der Leukozyten nach anschließendem Pyrifosreiz mit 2 E. Kurven der einzelnen Tiere und Mittelwertkurve (ausgezogen).

dd) Wie bei vorigem Versuch wurde 5 Tieren 0,3 mg Trenimon / kg Körpergewicht gegeben. 24 Stunden später erfolgten Leukozytenkontrolle und Knochenmarkfunktionsprüfung mit 3 E Pyrifos. Tabelle 13.

Tabelle 13

Tier Nr.	10a	10b	10c	10d	10e	M.W.	%-Abw. gegenüb. Ausg.W. v. Treni.
Leukozyten vor Trenim.	32200	21500	16200	13000	12700	19120	100 %
24 h n. Trenim. 0 h v.							
3 E Pyrifer	8300	12800	12900	9900	8600	10500	54,9 %
2 h n. 3 E Pyrifer	7800	10900	9700	8100	9000	9100	47,6 %
4 h n. 3 E Pyrifer	10400	10000	14300	10500	13200	11680	61 %
6 h n. 3 E Pyrifer	7200	10600	9400	6500	12000	9140	47,8 %
8 h n. 3 E Pyrifer	6300	13200	9000	8300	9500	9260	48,4 %
24 h n. 3 E Pyrifer	7400	3000	7000	3500	4700	5120	26,8 %

Tabelle 13 : Leukozyten vor und 24 Stunden nach Einzeldosis von 0,3 mg Trenimon / kg Körpergewicht sowie bei anschließendem Test mit 3 E Pyrifer.

In dieser Gruppe fällt die Leukozytenzahl nach dem Trenimonstoß auf im Durchschnitt 55 % des Ausgangswertes. Jedoch zeigen alle 5 Tiere auf den stärkeren Pyriferreiz hin noch einen schwachen Anstieg der Leukozyten nach 4 Stunden; allerdings ist die Kurve der Mittelwerte gegenüber den Normalkurven erheblich abgeflacht. Wie in den vorigen Gruppen liegt die Leukozytenzahl 24 Stunden nach 3 E Pyrifer deutlich (hier rd. 50 %) unter dem Leukozytenwert vor Pyriferinjektion. Nur bei 2 Tieren liegen die Leukozyten noch im unteren Normbereich (9a, 9c), bei 3 Tieren besteht eine Leukopenie Abb. 9.

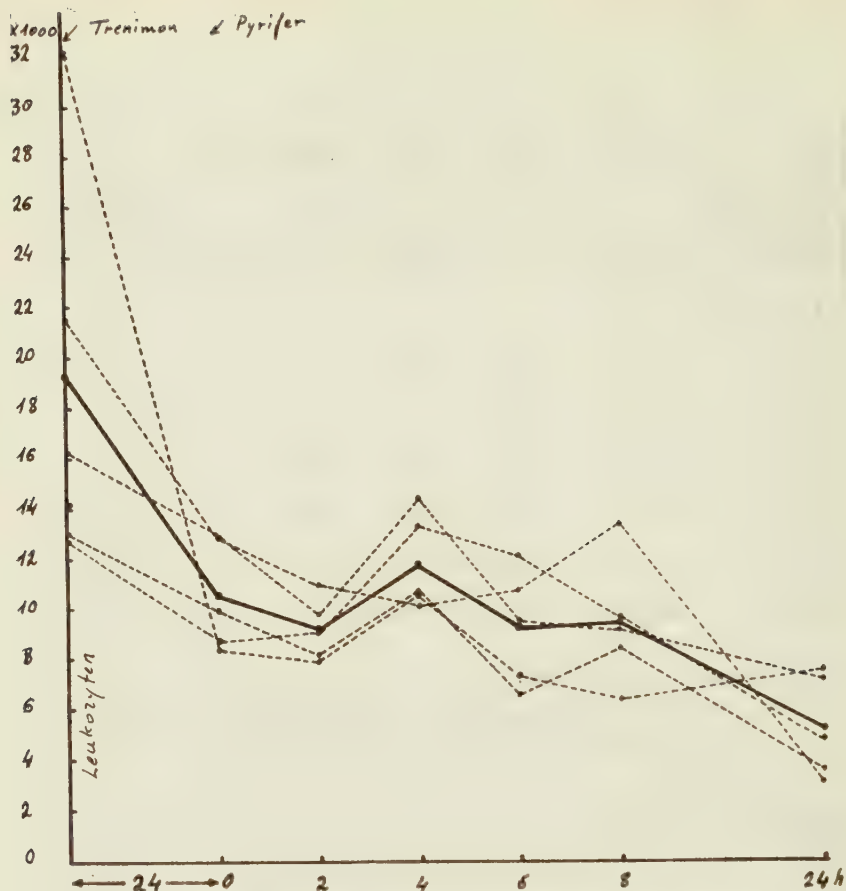


Abb. 9 : Leukozytenzahlen bei 5 Ratten vor und 24 Stunden nach Einzelgabe von 0,3 mg Trenimon / kg Körpergewicht sowie nach anschließendem Pyriferreiz mit 3 E.

ee) In der folgenden Gruppe, die wieder 5 Tiere erfaßte sollte untersucht werden, wie lange nach einmaliger Gabe von 0,3 mg Trenimon / kg Körpergewicht der Leukozytenabfall anhält und ob auch 48 Stunden nach der Cytostaticagabe eine verminderte Ansprechbarkeit auf einen Pyriferreiz (3 E) besteht. Es wurden also Leukozytenausgangswerte abgenommen, die genau errechnete Trenimondosis injiziert und 24 sowie 48 Stunden später die Leukozyten erneut gezählt. Erst dann erfolgten der Reiz mit 3 E Pyrifere und die Leukozytenkontrolle 2, 4, 6, 8 und 24 Stunden nach Pyrifereinjektion. (Tab. 14)

Tabelle 14

Tier Nr.	11a	11b	11c	11d	11e	M.W.	
Leukozyten vor Trenim.	22900	12500	12900	16500	21400	17240	100 %
24 h nach Trenimon	9300	5800	6200	20050	8100	9890	57 %
48 h nach Trenimon							
0 h vor Pyrifer	4000	5900	800	4500	1600	3360	19,5 %
2 h nach 3 E Pyrifer	2700	5000	1000	6700	800	3240	18,7 %
4 h nach 3 E Pyrifer	1250	4700	850	6200	1000	2800	16,4 %
6 h nach 3 E Pyrifer	1600	3200	800	5600	1100	2460	14 %
8 h nach 3 E Pyrifer	1600	5000	800	6000	1500	2980	17 %
24 h nach 3 E Pyrifer	2100	2800	1250	4000	2800	2590	15 %

Tab. 14 : Leukozytenwerte bei 5 Ratten vor sowie 24 und 48 Stunden nach 0,3 mg Trenimon / kg Körpergewicht und dem anschließenden Reiz mit 3 E Pyrifer.

Es zeigt sich, daß die Leukozyten nach 24 Stunden abgefallen sind und daß dieser Abfall nach 48 Stunden noch wesentlich ausgeprägter ist. Bei allen 5 Tieren sind die Leukozyten 48 Stunden nach dem Trenimonstoß unter $5000/\text{mm}^3$ erniedrigt. Bei Tier 11c wird mit $800 \text{ Leuko.}/\text{mm}^3$ ein extrem niedriger Wert bestimmt. Im Mittel werden nach 24 Stunden noch 57 % nach 48 Stunden noch 19,5% des Ausgangswertes gefunden. Auf die folgende Injektion von 3 E Pyrifer, die nach den Vorversuchen doch einen schwachen Reiz darstellt, reagiert nur noch Tier 11d mit einem ganz leichten Anstieg (um $2200 \text{ Leuko}/\text{mm}^3$) nach 2 und 4 Stunden. Bei den übrigen Tieren fallen die Leukozyten auch nach dem Pyriferreiz unverändert ab. Es scheint, als sei das volle Ausmaß der Knochenmarkdepression durch Trenimon erst am 2.-3. Tag nach der einmaligen Injektion erreicht. Abb. 10 zeigt den erheblichen Leukozytenabfall im Gefolge des Trenimonstoßes und die Wirkungslosigkeit der Injektion von 3 E Pyrifer.

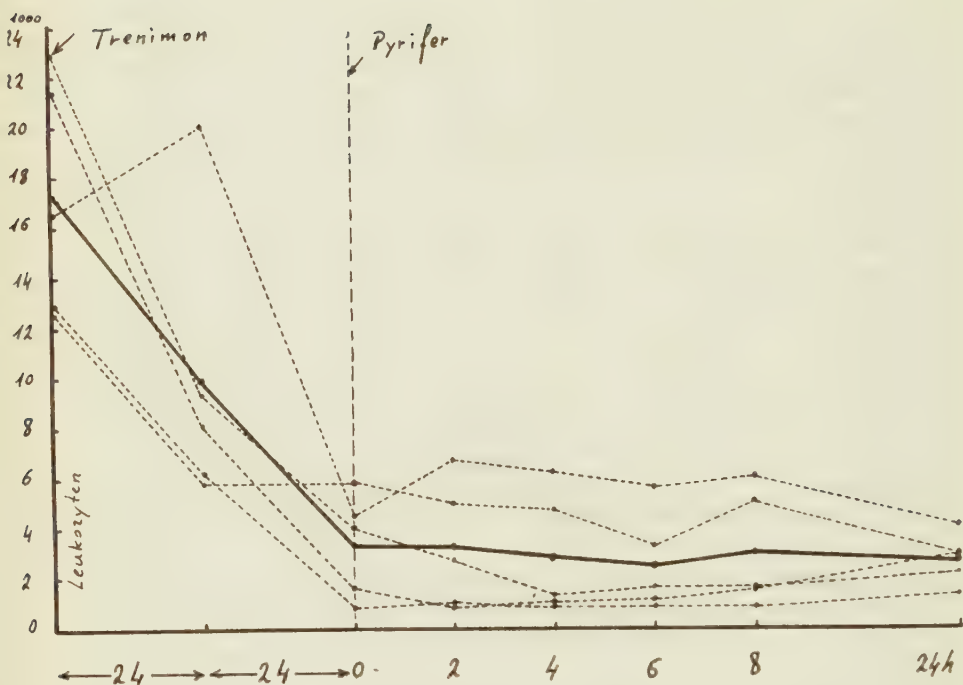


Abb. 10 : Leukozytenwerte bei 5 Ratten vor sowie 24 und 48 Stunden nach Trenimonstoß mit 0,3 mg/kg Körpergewicht. Die anschließende Injektion von 3 E Pyrififer 48 Stunden nach Trenimongabe zeigt keine Reaktion mehr.

ff) In den folgenden Versuchsreihen (zu je 5 Ratten) wurden unterschiedliche Trenimondosen nicht als Einzelgabe, sondern auf 7 Tage verteilt gegeben. 24 bzw. 48 Stunden nach Abschluß der Trenimoninjektionen wurde der Pyrifertest mit 2 oder 3 E durchgeführt.

1) Trenimondosis 0,2 mg/kg Körpergewicht, verteilt auf 7 Tage.

Pyriferinjektion (2 E), 24 Stunden nach Abschluß der Trenimoninjektionen n = 6. Die Leukozyten wurden vor den Trenimoninjektionen und am 1., 4., 6. sowie 7. Tag während der Trenimongaben gezählt.

Tabelle 15

Tier Nr.	12a	12b	12c	12d	12e	12f	M.W.	%
Leukozyten								
1 Tg. vor Trenimon	9500	11400	10300	7400	9300	9300	9533	100
4.Tg. während Treni.	7200	9600	25200	5600	10300	7500	10900	
6.Tg. während Treni.	3300	10700	11400	7600	8800	5400	7866	
7.Tg. während Treni.	4400	6000	12200	10000	9800	4900	7883	
8.Tg. nach Treni. 0 h vor Pyrifer	4300	7500	5400	8300	8700	3500	6283	65,8
2 h nach 2 E Pyrifer	6800	6900	4300	4800	10700	3100	6100	63
4 h nach 2 E Pyrifer	6500	10600	8600	5400	10800	5900	7960	83
6 h nach 2 E Pyrifer	7400	6300	5400	8600	7200	6000	6816	71
8 h nach 2 E Pyrifer	4100	4000	3600	3300	5000	7000	3500	47
24 h nach 2 E Pyrifer	3300	4400	4600	2500	6200	6300	4550	47

Tab. 15: Leukozytenzahlen bei 6 Ratten vor, während und nach einer 7-tägigen Trenimonbehandlung. Ergebnis des 24 Stunden später durchgeführten Test's mit 2 E Pyrifer.

Es zeigt sich bei allen Tieren am Tage nach Abschluß der Trenimongaben ein Abfall der Leukozyten unter den Ausgangswert. Im Mittel beträgt dieser Abfall 35 %. Der anschließende Pyrifertest führt bei zu einem minimalen Anstieg nach 4-6 Stunden; im Mittel liegen die Leukozyten nur um 18 % über dem Wert vor der Pyriferinjektion. 24 Stunden nach Pyrifer sind die Leukozyten bei allen Tieren unter den Leerwert vor Pyrifer gefallen und bei 4 von 6 Ratten eindeutig leukopenisch.

Die Reaktion auf Pyrifer besteht in einer starken abgeflachten Kurve; Tier 12d zeigt überhaupt keine Reaktion.

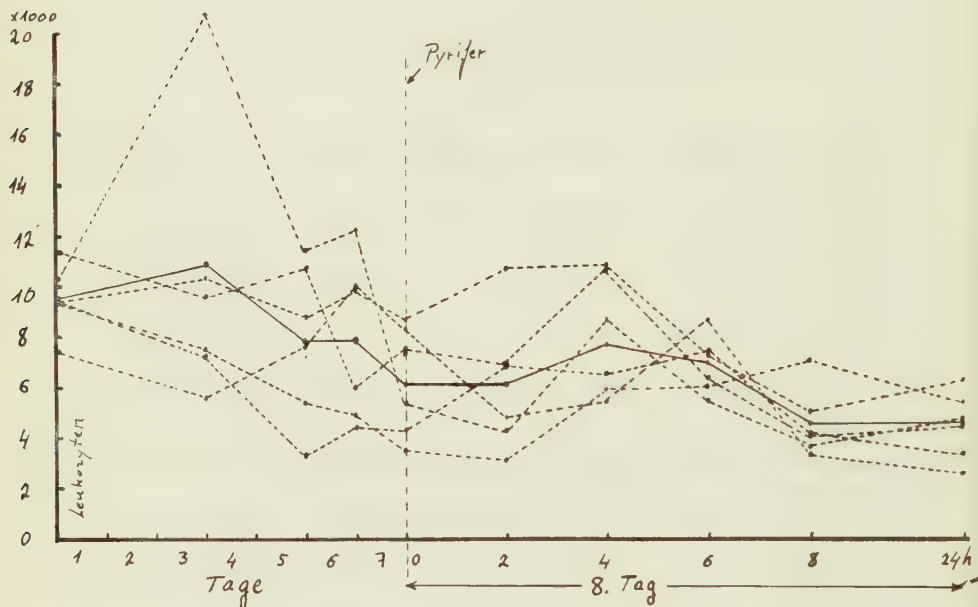


Abb. 11 : Leukozyten bei 6 Ratten nach Injektion von 2 E Pyrifer, die 24 Stunden nach einer auf 7 Tage verteilten Trenimonbehandlung mit insgesamt 0,2 mg/kg Körpergewicht erfolgt.

II) Trenimondosis 0,2 mg/kg Körpergewicht, verteilt auf 7 Tage. Pyriferinjektion (3 E) 24 Stunden nach Abschluß der Trenimongaben. $n = 5$

In dieser Gruppe wurde auf die Leukozytenkontrollen vor und während der Trenimongaben verzichtet. Die erste Leukozytenkontrolle erfolgte 24 Stunden nach Abschluß der Trenimoninjektion; diese Leerwerte sind bereits deutlich gegenüber der Norm erniedrigt. Die Testung mit 3 E Pyrifer ergibt

entweder ganz flache Kurven oder überhaupt keinen Leukozytenanstieg mehr. (Tab. 16, Abb. 12).

Tabelle 16

Tier Nr.	13 a	13b	13c	13d	13e	M.W.
Leukozyten n. 0,2 mg/ kg Trenim.	5600	2700	6900	4900	5500	5120
2 h nach 3 E Pyrifer	4400	4000	4800	6400	1800	4280
4 h nach 3 E Pyrifer	6000	5000	4700	6400	2600	4940
6 h nach 3 E Pyrifer	4200	4300	4900	6200	2600	4440
8 h nach 3 E Pyrifer	4100	4700	3900	5800	2700	4240
24 h nach 3 E Pyrifer	5500	2900	3800	3700	2400	3660

Tab. 16 : Leukozytenzahlen bei 5 Ratten. Pyriferreiz
(3 E) 24 Stunden nach Abschluß einer 7-tägigen
Trenimonbehandlung mit insgesamt 0,2 mg/kg.

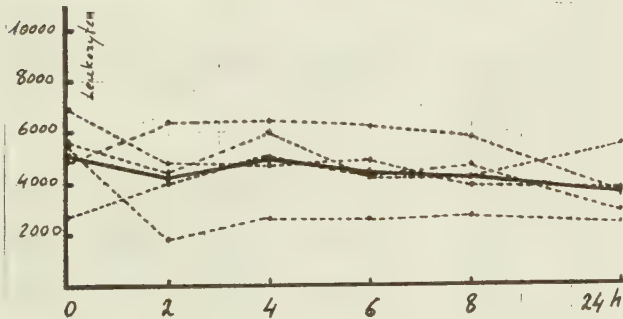


Abb. 12 : Leukozyten beim Test mit 3 E Pyrifer, der 24 Stunden nach Abschluß einer 7-tägigen Behandlung mit insgesamt 0,2 mg Trenimon / kg Körpergewicht durchgeführt wurde.

III) Irenimondosis: 0,2 mg/kg Körpergewicht, verteilt auf 7 Tage. Pyrifertest (3 E) 48 Stunden nach Abschluß der Trenimongabe. n = 5

In dieser Gruppe wurden die Leukozyten vor und täglich während der Trenimongaben untersucht. 48 Stunden nach Abschluß der Trenimongaben Pyrifertest mit 3 E.

Tabelle 17

Tier Nr.	14a	14b	14c	14d	14e	M.W.	%
Leukozyten							
1.Tg.vor Trenimon	12600	5900	12300	13300	11000	11740	100
2.Tg.während Treni.	7000	8000	10500	11600	7400	8900	
3.Tg.während Treni.	5500	7400	16400	11500	8800	9920	
4.Tg.während Treni.	4400	5500	8600	9900	10000	7680	
5.Tg.während Treni.	3600	6400	6950	13000	6400	7270	
6.Tg.während Treni.	3500	4200	5600	7900	4800	5200	
7.Tg.während Treni.	3000	4100	6600	8400	4800	5380	
8.Tg.ohne Trenimon	2100	3900	6100	9000	5200	5260	44
9.Tg. 0 h vor 3 E							
Pyriifer	4200	3200	4000	4300	5600	4260	36
2 h nach 3 E Pyriifer	5400	5600	3600	5200	4500	4860	41
4 h nach 3 E Pyriifer	5100	5000	6000	5400	7500	5800	49
6 h nach 3 E Pyriifer	4600	4600	5800	5700	3600	4860	41
8 h nach 3 E Pyriifer	3900	6000	3400	4800	2600	4140	35
24 h nach 3 E Pyriifer	7100	5100	6900	7400	3300	5960	50

Tab. 17 : Leukozyten vor und bei täglichen Kontrollen während einer 7-tägigen Behandlung mit einer Gesamtdosis von 0,2 mg/kg Körpergewicht Trenimon sowie beim anschließenden Reiz mit 3 E Pyriifer.

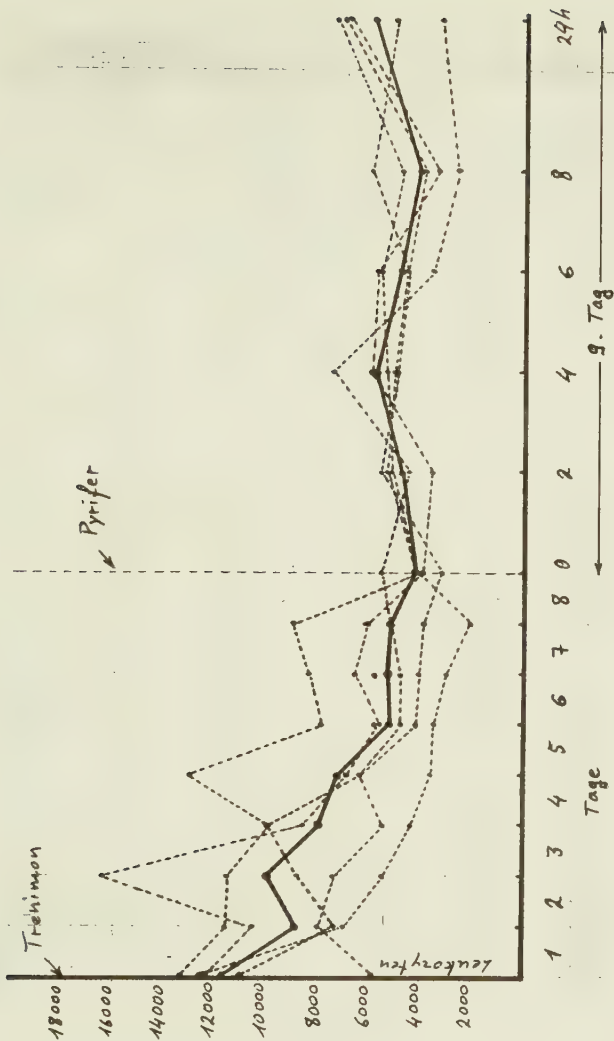


Abb. 13 : Leukozytenkurven während einer 7-tägigen Trenimongabehandlung. (Ges. Dos. 0,2 mg/kg Körpergewicht) und beim Test mit 3 E Pyifer 48 Stunden nach Abschluß der Trenimongaben.

Die graphische Darstellung in Abb. 13 zeigt, wie die Leukozyten, mit Schwankungen, insgesamt während der Trenimonbehandlung abfallen, so daß sie 2 Tage nach Abschluß der Trenimongabe im Mittel um 50 % unter den Ausgangswerten liegen. Pyrifer (3 E) führt entweder zu keinem oder nur zu einem minimalen Anstieg der Leukozyten. Auffallend ist, daß nach Abschluß des Pyrifertestes, also 72 Stunden nach Beendigung der Trenimonbehandlung, die Leukozyten wieder eine deutlich ansteigende Tendenz zeigen.

IV) Trenimondosis 0,3 mg/kg Körpergewicht, verteilt auf 7 Tage. Leukozytenkontrollen vor und täglich während der Trenimongaben. Test mit 2 E Pyrifer 24 Stunden nach Abschluß der Trenimonbehandlung. n = 5

Die Ergebnisse dieser Gruppe zeigen Tab. 18 und Abb. 14.

Tabelle 18

Tier Nr.	15a	15b	15c	15d	15e	M.W.	%
Leukozyten am 1.Tg.vor Trenimon	22850	9930	15200	18700	9160	15168	100
2.Tg.der Trenimong.	21400	13050	9630	13070	6900	12810	
3.Tg.der Trenimong.	9450	12850	10000	5350	4100	8350	
4.Tg.der Trenimong.	7350	8600	8750	7000	3400	7020	
5.Tg.der Trenimong.	6900	3600	6200	5000	3150	4970	
6.Tg.der Trenimong.	4100	4150	4170	7400	3400	4644	
7.Tg.der Trenimong.	3650	3750	6250	3900	2300	3970	
am 8.Tg.vor 2 E Pyrifer	4400	6300	3040	4100	4700	4508	29,7
2 h nach 2 E Pyrifer	3450	3400	3600	4700	2350	3500	23
4 h nach 2 E Pyrifer	2250	3900	3800	6100	3800	3970	26
6 h nach 2 E Pyrifer	2840	3500	4800	5500	2400	3808	25
8 h nach 2 E Pyrifer	4700	3200	3200	7800	2000	4180	27
24 h nach 2 E Pyrifer	2600	2900	4000	6600	2200	3860	25

Tab. 18 : Leukozyten bei 5 Ratten vor und während einer 7-tägigen Behandlung mit einer Gesamtdosis von 0,3 mg Trenimon/kg Körpergewicht. Ergebnis des 24 Stunden später durchgeführten Test's mit 2 E Pyrifer.

Es erfolgt bei 4 von 5 Tieren während der Trenimonbehandlung ein Leukozytenabfall auf deutlich subnormale Werte am 8. Tage. Nur Tier 15b liegt mit 6300 Leuko./mm³ im unteren Normbereich. 2 E Pyrifer führen nicht mehr zu einer Reaktion. 24 Stunden nach der Pyriferinjektion liegen die Leukozyten bei 3 von 5 Tieren unter, bei einem Tier am und nur bei einem Tier leicht über der Zahl, die vor der Pyriferinjektion gewonnen wurde.

Der Leukozytenabfall unter Trenimonbehandlung beträgt im Mittel 70 %. Nach dem Pyrifertest, der also den weiteren Leukozytenabfall überhaupt nicht beeinflussen kann, liegen die Leukozyten im Mittel sogar 75 % unter dem Wert, der vor der Trenimonbehandlung bestimmt wurde.

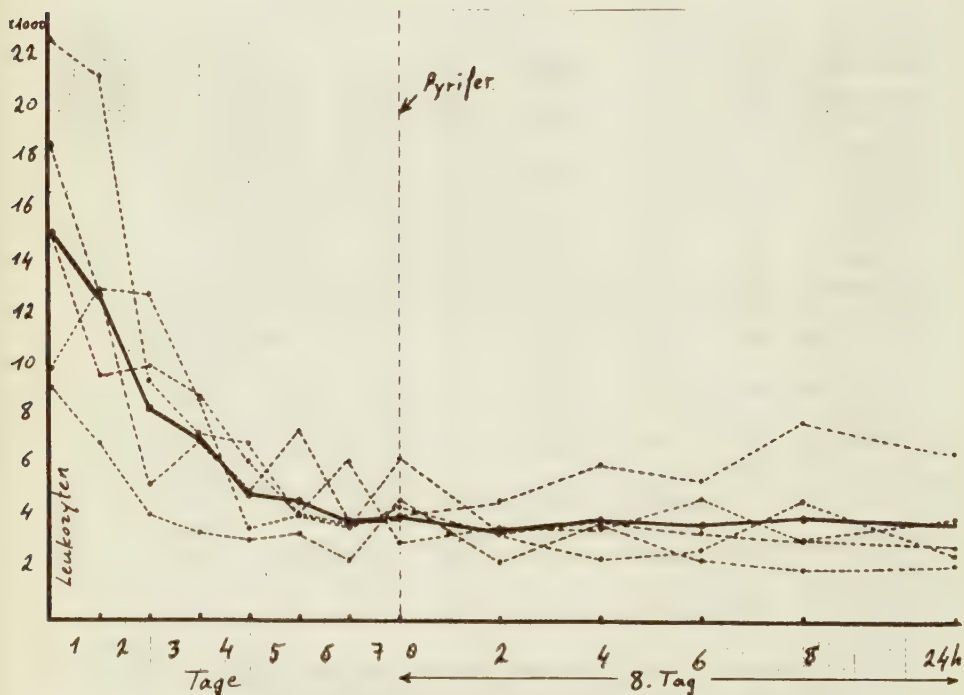


Abb. 14 : Leukozytenverhalten bei 5 Ratten während einer 7-tägigen Behandlung mit Trenimon, (Ges.-Dosis 0,3 mg/kg Körpergewicht) und beim 24 Stunden später durchgeführten Test mit 2 E Pyrifer.

V) Trenimondosis: 0,3 mg/kg Körpergewicht, verteilt auf 7 Tage. Leukozytenkontrollen vor und am 5. und 7. Tag der Trenimongaben. Pyrifertest mit 3 E 24 Stunden nach Abschluß der Trenimonbehandlung. n = 5

Die Ergebnisse in Tabelle 19 zeigen bei allen Tieren einen charakteristischen Abfall der Leukozyten während und auch nach 24 Stunden nach der Trenimonbehandlung. Der nun folgende Test mit 3 E Pyrifert zeigt bei 16a, 16c und 16d keine, bei 16b eine angedeutete Reaktion. Bei allen diesen 4 Tieren unterschreiten die Leukozyten 24 Stunden nach Pyrifergabe noch den Wert vor Pyrifergabe. 16e zeigt ein abweichendes Verhalten; dieses Tier (Werte in Klammern) war vor Versuchsbeginn schon krank (träge, freßunlustig). In die Mittelwertberechnung und die Kurvendarstellung ist 16e deswegen nicht einbezogen.

Tabelle 19

Tier Nr.	16a	16b	16c	16d	16e	M.W.	%
Leukozyten vor Trenim.	6200	9100	9900	8200	(44800)	8350	100
5.Tg.während Trenimon	3000	4600	2400	4900	(8300)	3725	
7.Tg.während Trenimon	1400	6100	2700	2700	(10000)	3225	
8.Tg.nach Trenimon, 0 h vor 3 E Pyrifert	2500	2800	2500	2000	(5100)	2450	29
2 h nach 3 E Pyrifert	1700	4500	900	2700	(6400)	2450	29
4 h nach 3 E Pyrifert	1600	3400	1700	2500	(6400)	2300	27
6 h nach 3 E Pyrifert	2400	4600	1600	1700	(4700)	2575	30
8 h nach 3 E Pyrifert	1300	4200	1100	1800	(6700)	2100	25
24 h nach 3 E Pyrifert	1600	2600	1400	1300	(10500)	1725	20

Tab. 19 : Leukozyten bei 4 Ratten vor und am 5. und 7. Tag einer 7-tägigen Trenimonbehandlung (Ges.-Dosis 0,3

mg/kg Körpergewicht). Ergebnisse des Testes mit 3 E Pyrifer 24 Stunden nach Abschluß der Trenimonbehandlung.

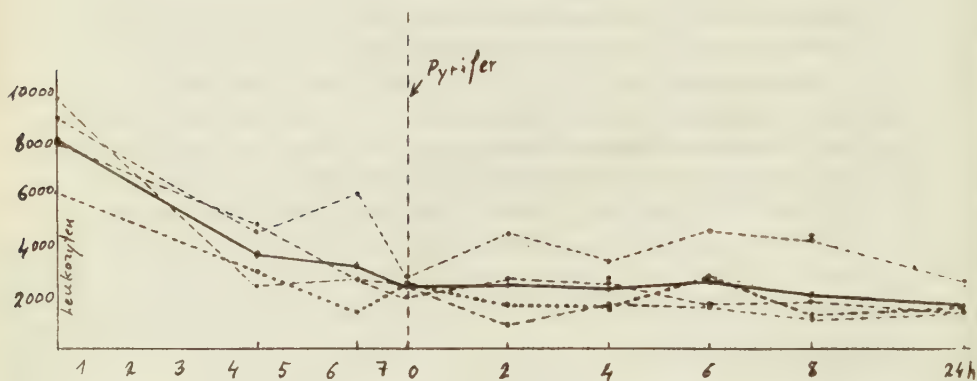


Abb. 15 : Leukozytenverhalten bei 4 Ratten während einer 7-tägigen Trenimonbehandlung (Ges.-Dosis 0,3 mg/kg Körpergewicht). 3 E Pyrifer 24 Stunden nach Abschluß der Trenimongaben.

VI) Trenimondosis: 0,3 mg/kg Körpergewicht, verteilt auf 7 Tage. Leukozyten vor und täglich während Trenimonbehandlung. Pyrifer test mit 3 E 48 Stunden nach Abschluß der Trenimongaben.

Tabelle 20

Tier Nr.	17a	17b	17c	17d	17e	M.W.	%
Leukozyten vor Trenimon							
1. Tag	11700	11400	14200	11500	12100	12180	100
2.Tg.wäh- rend Treni.	11100	12200	13000	8100	11100	11100	
3.Tg.wäh- rend Treni.	15100	9100	10500	6100	6700	9500	
4.Tg.wäh- rend Treni.	11900	8700	6500	5200	7400	7940	
5.Tg.wäh- rend Treni.	5800	6800	4000	4000	7900	5700	
6.Tg.wäh- rend Treni.	8800	5700	4900	4200	4300	5580	
7.Tg.wäh- rend Treni.	4300	4250	4400	3400	4850	4240	
am 8.Tg. 24 h nach Treni.	2350	4600	4400	3000	5200	3910	32
am 9.Tg. 48 h nach Treni.							
0 h vor 3 E Pyrifer	2000	3400	5600	1800	2500	3060	25
2 h nach 3 E Pyrifer	2900	3600	4400	1700	2200	2960	24
4 h nach 3 E Pyrifer	2900	2600	2500	1900	4200	2820	23
6 h nach 3 E Pyrifer	2500	3500	3700	2400	2900	3000	24
8 h nach 3 E Pyrifer	1950	2500	3400	1800	2000	2330	19
24 h nach 3 E Pyrifer	3500	2500	4400	2600	2800	3160	25,9

Tab. 20 : Leukozytenzahlen bei 5 Ratten vor und täglich während einer 7-tägigen Trenimonbehandlung (Ges.-Dosis 0,3 mg/kg Körpergewicht), sowie beim 48 Stunden später durchgeführten Test mit 3 E Pyrifer.

Unter der Trenimonbehandlung fallen die Leukozyten bei allen Tieren ab. 48 Stunden nach Abschluß der Trenimongaben sind die Leukozyten bei allen Tieren auf eindeutig pathologische Werte abgefallen. Der Leukozytenabfall bis zum 9. Tag beträgt im Mittel 75 %.

Der nun anschließende Test mit 3 E Pyrifer ergibt bei 4 Tieren keine Reaktion, bei 17e ergibt sich ein flacher Leukozytenanstieg. Der 24-Stundenwert des Pyrifer-Test's also die Leukozyten 72 Stunden nach Abschluß der Trenimonbehandlung, liegt bei dieser Gruppe wieder höher als der Wert vor Pyrifergabe, Abb. 16.

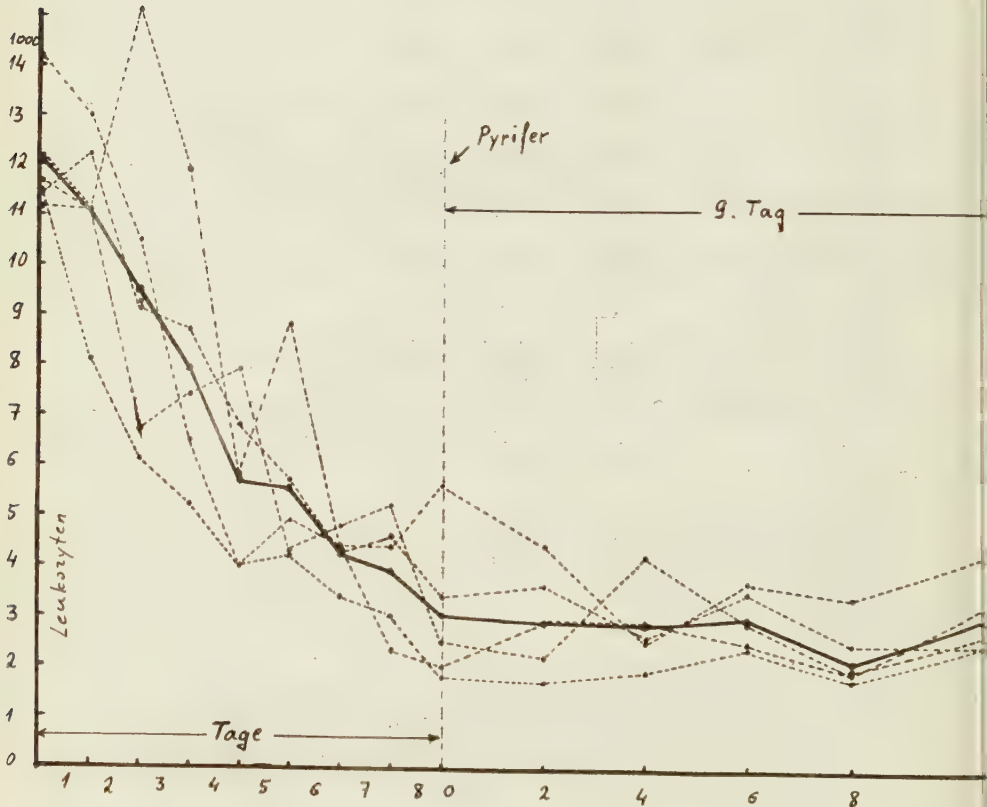


Abb. 16 : Leukozyten bei 5 Ratten vor und während einer 7-tägigen Behandlung mit insgesamt 0,3 mg Trenimon/kg Körpergewicht. Ergebnis des 48 Stunden später durchgeführten Testes mit 3 E Pyrifer.

Faßt man die Ergebnisse der Trenimonversuche zusammen, so lassen sich folgende Beobachtungen ziehen:

Trenimondosis von 0,2 - 0,3 mg/kg führt immer - gleich ob auf einmal oder auf 7 Tage verteilt gegeben - zu einem erheblichen Leukozytenabfall bei Ratten.

Die Knochenmarkfunktionsprüfung nach MOESCHLIN mit 2 oder 3 E Pyrifur führt zu keiner oder nur zu einer geringen, also pathologischen Reaktion.

- 1) Schwache Knochenmarkreaktion wird beobachtet wenn
 - a) 24 bzw. 48 Stunden nach Abschluß einer Trenimondosis von 0,2 mg/kg, wenn verteilt auf 7 Tage gegeben.
 - b) 24 Stunden nach Abschluß einer Trenimondosis von 0,2 mg/kg als Einzeldosis gegeben.
- 2) Ganz minimale Knochenmarkreaktion zeigt 24 Stunden nach Abschluß einer Trenimondosis von 0,3 mg/kg. als Stoßdosis
- 3) Keine Knochenmarkreaktion wird beobachtet, wenn
 - a) 48 Stunden nach Abschluß einer 0,3 mg Trenimon/kg als Stoßdosis gegeben.
 - b) 24 bzw. 48 Stunden nach Abschluß einer 0,3 mg Trenimon/kg, wenn auf 7 Tage verteilt gegeben.

Anders gesagt: Will man bei Ratten eine kräftige Depression des leukopoetischen Systems erzielen, so muß man 0,3 mg Trenimon/kg Körpergewicht geben.

- a) als Stoß: Die Knochenmarkdepression ist dann 48 Stunden nach Verabfolgung der Dosis am deutlichsten,
- b) verteilt auf 7 Tage: Die Knochenmarkdepression ist 24,48 Stunden nach Abschluß der Trenimonbehandlung am ausgeprägtesten.

3) Versuche nach Puri-Nethol-Gaben.

45 Ratten wurden in verschiedenen Versuchsgruppen mit unterschiedlichen Puri-Nethol-Gaben unter wechselnden Bedingungen vorbehandelt. Anschließend wurde die Knochenmarkfunktionsprüfung nach MOESCHLIN mit 3 E Pyrifur durchgeführt.

aa) 2,5 mg Puri-Nethol pro kg Körpergewicht / die.

Diese Puri-Nethol-Dosis, die der therapeutischen Dosis beim Menschen entspricht, wurde 5 Ratten über 35 Tage täglich verabfolgt. Die Leukozyten wurden täglich gezählt. Wie Tabelle 21, in der die Leukozytenzahlen jeden 3. Tag aufge-

geschrieben sind, zeigt. Es kommt dabei nicht zu einer Leukopenie. Der am 36. Tag durchgeführte Test mit 3 E Pyrifer ergibt bei allen Tieren ein normales Ansprechen auf den Reiz: Die Leukozyten steigen nach der 4.-6. Stunde an, dann erfolgt ein Abfall zu den Ausgangswerten, der nach 24 Stunden abgeschlossen ist (Tab. 21, Abb. 17).

Im Mittel steigen die Leukozyten auf 130 % des Wertes vor Pyrifergabe. Bei dieser Berechnung und in der Abb. 17 ist Tier 18c nicht berücksichtigt, das schon vor den Puri-Nethol-Gaben anormal hohe Leukozytenzahlen zeigte. Vermutlich hat hier irgendeine Erkrankung vorgelegen.

Tabelle 21

Tier Nr.	18a	18b	18c	18d	18e		
Leukozyten vor Puri- Nethol	16800	13700	(35000)	13000	7800		
Leukozyten am 2. Tage	21500	13300	(40200)	13900	11700		
am 4. Tage	15700	11800	(36000)	14600	9500		
am 6. Tage	16500	22500	(46000)	12400	13100		
am 8. Tage	25700	13900	(40600)	14000	10200		
am 10. Tage	20500	10100	(36000)	13100	10100		
am 12. Tage	19700	15700	(32700)	24000	8000		
am 14. Tage	11700	13300	(26400)	12900	9400		
am 16. Tage	20200	12000	(60400)	18200	7300		
am 18. Tage	21400	7600	(32300)	13600	6700		
am 20. Tage	24700	15600	(50300)	20000	8000		
am 24. Tage	16500	9500	(33100)	13200	6700		
am 27. Tage	25700	13000	(63800)	15900	10100	M.W.	%
am 35. Tage 0 h vor 3 E Pyrifer	16700	8700	(57400)	13500	6900	11450	100
2 h nach 3 E Pyrifer	20100	6600	(58000)	20000	9200	13975	122
4 h nach 3 E Pyrifer	21100	13400	(61000)	12600	11900	14750	128,8
6 h nach 3 E Pyrifer	16000	7900	(66000)	25200	10800	14975	130
8 h nach 3 E Pyrifer	23300	10800	(70000)	28000	7300	17350	151
24 h nach 3 E Pyrifer	14100	10100	(74000)	14600	10800	12400	108

Tab. 21 : Leukozytenzahlen bei 5 Ratten vor und während einer 35-tägigen Behandlung mit täglich 2,5 mg Puri-Nethol/ kg Körpergewicht und beim anschließenden Test mit 3 E Pyrififer.

Die bei diesem Versuch verabreichte Gesamtdosis Puri-Nethol betrug 87,5 mg/kg Körpergewicht. Eine Knochenmarkdepression ist weder durch die täglichen Leukozytenkontrollen noch mittels des anschließenden Pyrififer-Testes festzustellen.

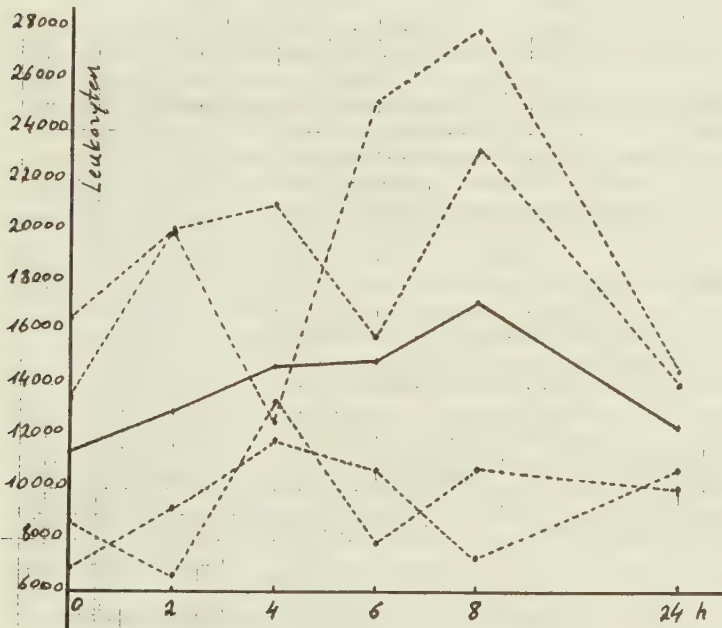


Abb. 17 : Leukozyten bei 4 Ratten beim Pyrifertest (3 E) nach einer 35-tägigen Puri-Nethol-Behandlung (tägl. 2,5 mg/kg Körpergewicht).

bb) In der folgenden Serie, die 2 Gruppen à 10 Tiere umfaßte, wurde den Ratten nach Bestimmung der Leukozyten 8 Tage lang Puri-Nethol verabreicht. In der ersten Gruppe wurden täglich 10 mg/kg Körpergewicht gegeben, das entspricht einer Gesamtdosis von 80 mg/kg Körpergewicht. In der zweiten Gruppe erhielten die Tiere 16,7 mg/kg Körpergewicht täglich, also eine Gesamtdosis von 133,6 mg/kg Körpergewicht. Am Tage nach Abschluß der Puri-Nethol-Gaben wurde der Test mit 3 E Pyrififer durchgeführt.

Tabelle 22

Tier Nr.	19a	19b	19c	19d	19e	19f
Leukozyten vor Puri-Nethol	17100	11000	16100	9200	19600	18100
24 h nach Puri-Nethol 0 h vor 3 E Pyrifer	22800	18100	13300	17000	19800	17200
2 h nach 3 E Pyrifer	12300	12000	12200	18300	27400	12900
4 h nach 3 E Pyrifer	15200	19700	14100	25200	36000	18000
6 h nach 3 E Pyrifer	14800	14700	18000	19900	27100	16400
8 h nach 3 E Pyrifer	11200	12600	23300	19400	19400	14600
24 h nach 3 E Pyrifer	16000	12900	17800	12700	11700	10300

Fortsetzung Tabelle 22

Tier Nr.	19g	19h	19i	19k	M.W.	%
Leukozyten vor Puri-Nethol	18900	10900	12700	28400	16200	
24 h nach Puri-Nethol 0 h vor 3 E Pyrifer	19800	16100	13000	27200	18430	100
2 h nach 3 E Pyrifer	22600	14000	12400	25500	16960	92
4 h nach 3 E Pyrifer	20000	13200	14500	26200	20210	110
6 h nach 3 E Pyrifer	40100	9500	13900	35200	20960	113
8 h nach 3 E Pyrifer	28200	20500	9200	23000	18140	98
24 h nach 3 E Pyrifer	16400	12200	15900	31000	15690	85

Tab. 22 : Leukozytenzahlen bei 10 Ratten vor und nach einer 8-tägigen Behandlung mit 10 mg Puri-Nethol/kg Körpergewicht pro Tag. Ergebnis des folgenden Testes mit 3 E Pyrifer.

Tabelle 23

Tier Nr.	20a	20b	20c	20d	20e	20f
Leukozyten vor						
Puri-Nethol	9800	11900	19500	14200	(32000)	-
2.Tg.während						
Puri-Nethol	9900	11100	13500	16700	(31500)	-
3.Tg.während						
Puri-Nethol	9000	8900	21900	18000	(25600)	-
4.Tg.während						
Puri-Nethol	6500	9300	19600	11400	(27800)	-
5.Tg.während						
Puri-Nethol	10200	7700	11900	12700	(16000)	-
6.Tg.während						
Puri-Nethol	8100	7200	10100	9100	(24200)	-
7.Tg.während						
Puri-Nethol	12300	10100	13200	11700	(51000)	-
8.Tg.während						
Puri-Nethol	7800	12600	13200	11900	(30700)	-

am 9.Tg.nach						
Puri-Nethol						
0 h vor 3 E						
Pyrifer	11700	10400	10100	8800	(11600)	11700
2 h nach						
3 E Pyrifer	6200	12800	10200	9100	(15800)	18600
4 h nach						
3 E Pyrifer	9100	23200	18700	12000	(21000)	22600
6 h nach						
3 E Pyrifer	8300	16900	21200	16000	(20100)	24600
8 h nach						
3 E Pyrifer	5900	8900	10600	14600	(16900)	17500
24 h nach						
3 E Pyrifer	7300	10900	10400	12800	(27000)	13900

Fortsetzung Tabelle 23

Tier Nr.	20g	20h	20i	20k	M.W.	%
Leuko. am 9.						
Tag nach Puri-						
Nethol 0 h vor						
3 E Pyrifer	18600	18000	29400	8700	14155	100
2 h nach						
3 E Pyrifer	15400	23000	22700	14500	14722	104
4 h nach						
3 E Pyrifer	26500	38100	33300	16800	22255	157
6 h nach						
3 E Pyrifer	20500	28000	36100	12300	20433	144
8 h nach						
3 E Pyrifer	20300	22400	28900	10500	15511	109
24 h nach						
3 E Pyrifer	17300	16000	13200	13100	12766	90

Tab. 23 : Leukozyten vor und während einer 8-tägigen Behandlung mit Puri-Nethol (16,7 mg/kg/die) und beim anschließenden Test mit 3 E Pyrifer. Die Leukozytenkontrolle während der Puri-Nethol-Behandlung erfolgte nur bei den Tieren 20a-20e.

In dieser Serie bleiben trotz der hohen Puri-Nethol-Dosis die Leukozyten unverändert. Im Mittel (Abb. 18) zeigt der Pyrifertest sowohl bei der 10 mg - als auch bei der 16,7 mg-Gruppe einen normalen Ausfall. Die Leukozyten steigen im Durchschnitt auf 113 % des Wertes vor Pyriferbelastung bei der 10 mg-Gruppe und auf 157 % des Wertes vor Pyrifergabe bei der 16,7 mg-Gruppe an. Im Einzelnen zeigen in der 10 mg-Gruppe die Tiere 19a und 19f keine Reaktion auf den Pyriferreiz. Abweichend vom Normbild liegen die Leukozyten 24 Stunden nach der Pyrifergabe bei 19a, 19b, 19d, 19e, 19f und 19h unter dem Wert vor Pyrifer, im Mittel um 23 %. Bei der 16,7 mg-Gruppe reagiert deutlich 20a nicht auf den Pyriferreiz, alle anderen Tiere zeigen gute bis sehr gute Reaktionen. Ein Absinken des 24-Stunden-Wertes unter den Wert vor Pyrifergabe zeigen nur 20a und 20i. Bei 20e steigen die Leukozyten bis 24 Stunden nach Pyrifergabe sogar noch erheblich an. Dieses Verhalten, das formal völlig der Reaktion auf hohe Pyriferdosen (10-20 E) entspricht, könnte auf einer erhöhten Empfindlichkeit gegenüber Pyrifer bestehen. Bei der Mittelwertberechnung wurden die Zahlen von 20e deswegen nicht berücksichtigt.

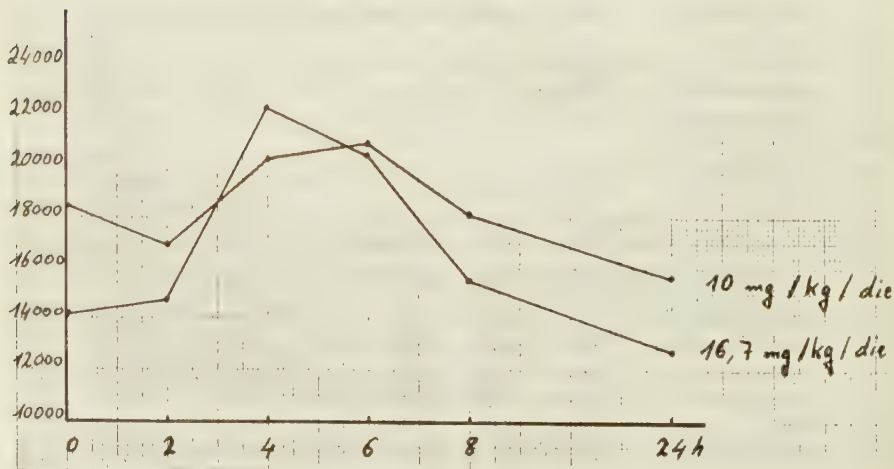


Abb. 18 : Mittelwertkurven für die Ergebnisse eines Pyrifertest's bei 9 bzw. 10 Ratten, die mit 10 mg/kg die bzw. 16,7 mg/kg/die Puri-Nethol über 8 Tage vorbehandelt wurden.

Es zeigt sich also, daß auch hohe Puri-Nethol-Dosen, die weit über den in der Therapie beim Menschen angewendeten liegen, bei Ratten weder eine Leukopenie noch einen pathologischen Ausfall des Pyrifertest's hervorrufen.

cc) Einzeldosis Puri-Nethol 133,6 mg/kg Körpergewicht Pyrifertest mit 3 E bei der ersten Gruppe 24 Stunden, bei der zweiten Gruppe 48 Stunden nach dem Puri-Netholstoß.

In dieser Serie, die 2 Untergruppen zu je 5 Tieren umfaßte, wurden 133,6 mg/kg Körpergewicht Puri-Nethol als Einzelgabe verabreicht. Eine Leukozytenkontrolle vor der Medikamentengabe erfolgte nicht. Ein Tier ist 72 Stunden nach der Puri-Nethol-Gabe gestorben. Die Ergebnisse zeigen die Tabellen 24a/b und Abb. 19.

Tabelle 24 a

Tier Nr.	21a	21b	21c	21d	21e	M.W.	%
Leukozyten							
24 h nach							
Puri-Nethol							
0 h vor 3 E							
Pyrifer	16200	10000	19500	11300	17900	14980	100
2 h nach							
3 E Pyrifer	11000	15200	17700	8500	16200	13720	91
4 h nach							
3 E Pyrifer	7400	15400	20000	18400	23200	16880	113
6 h nach							
3 E Pyrifer	8800	19400	11700	18700	21000	15920	106
8 h nach							
3 E Pyrifer	14600	16800	14000	12300	20000	15540	103
24 h nach							
3 E Pyrifer	7900	13200	15000	11800	19500	13480	89

Tab. 24a : Leukozyten bei 5 Ratten bei einem Pyrifertest (3 E) 24 Stunden nach einer Einzelgabe von 133,6 mg Puri-Nethol/ kg Körpergewicht.

Tabelle 24b

Tier Nr.	21f	21g	21h	21i	21k	M.W.	%
Leukozyten							
48 h nach							
Puri-Nethol							
0 h vor 3 E							
Pyrifer	11300	20300	19800	16000	9700	15420	100
2 h nach							
3 E Pyrifer	15000	18000	18800	15400	14700	16380	106
4 h nach							
3 E Pyrifer	12800	29000	19100	30300	23700	22980	149
6 h nach							
3 E Pyrifer	11000	36300	16100	31300	17700	22480	145
8 h nach							
3 E Pyrifer	13000	19300	25000	33800	25000	23220	150
24 h nach							
3 E Pyrifer	+	19900	19700	18000	12000	17400	112

Tab. 24b : Leukozyten bei 5 Ratten bei einem Pyrifertest
(3 E) 48 Stunden nach einer Einzelgabe von
133,5 mg Puri-Nethol/ kg Körpergewicht.

Leukopenische Leukozytenwerte sind weder 24 Stunden noch 48 Stunden nach dem Puri-Nethol-Stoß zu beobachten. Allerdings reagieren beim Pyrifertest in jeder Untergruppe nur je 3 Tiere normal auf den Testreiz (21b, 21d, 21e, 21g, 21i und 21k). Während im Mittel beim Pyrifertest 48 Stunden nach Puri-Nethol-Stoß die Reaktion noch normal erfolgt (Anstieg auf etwa 150 % des Ausgangswertes), zeigt die Mittelwertkurve 24 Stunden nach der Medikamentgabe doch einen abgeflachten Verlauf. Diese Abflachung der Mittelwertkurve geht jedoch ganz zu Lasten der Tiere 21a und 21c. Es ist fraglich, ob diese Abflachung der Mittelwertkurve als Ausdruck einer Knochenmarkdepression gedeutet werden darf.

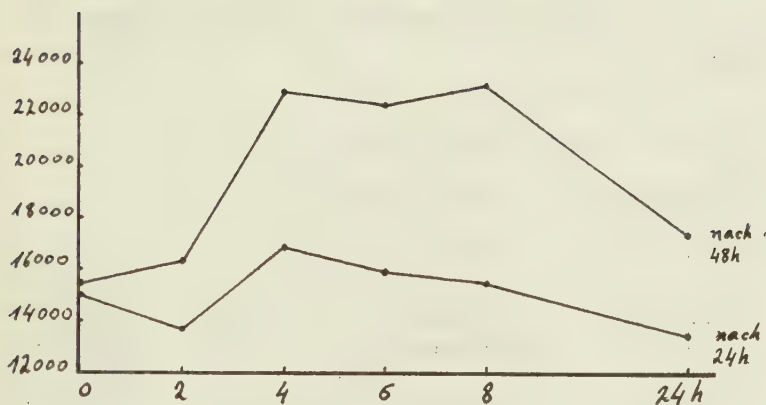


Abb. 19 : Mittelwertkurven der Leukozyten von je 5 Ratten bei einem Pyrifertest mit 3 E, der 24 Stunden bzw. 48 Stunden nach einem Puri-Nethol-Stoß mit 133,5 mg/kg Körpergewicht erfolgte.

dd) Die Auswirkung höchster Puri-Nethol-Dosen auf Ratten wurde an 9 Tieren untersucht, die täglich 32,25 mg Puri-Nethol/kg Körpergewicht erhielten mit dem Ziel, innerhalb von 8 Tagen eine Gesamtdosis von 258 mg Puri-Nethol/kg Körpergewicht zu erreichen. Bei 4 Tieren dieser Gruppe wurden die Leukozyten täglich gezählt, bei den übrigen nur die Reaktion auf diese hohen Puri-Nethol-Dosen beobachtet. Immerhin liegt die LD 50 für Puri-Nethol bei Mäusen nach GOLDIN et al bei 250 mg/kg Körpergewicht. Tabelle 25 zeigt, daß von 9 Tieren nur 2 überlebten; bei diesen beiden Tieren (22g, 22i) wurde 24 Stunden nach Puri-Nethol-Gabe der Pyrifertest durchgeführt. Bei den 4 Tieren, bei denen während der Puri-Nethol-Gabe die Leukozyten gezählt wurden, zeigte eines (22a) keine Veränderung, zwei (22b, 22d) einen Abfall, eins (22c) einen Anstieg der Leukozytenzahlen. Der Tod der während des Versuches verendeten Tiere erfolgte nach Verabfolgung von 160-258 mg Puri-Nethol/kg Körpergewicht, im Durchschnitt nach 210 mg/kg Körpergewicht.

Tabelle 25

Tier Nr.	22a	22b	22c	22d	22e	22f	22h
Leukozyten vor Puri-Nethol	32100	13100	51600	19400	-	-	-
2.Tg.Puri-Nethol-Gabe	30500	8300	39900	17000	-	-	-
3.Tg.Puri-Nethol-Gabe	19200	6800	34800	13000	-	-	-
4.Tg.Puri-Nethol-Gabe	17900	10700	29300	12100	-	-	-
5.Tg.Puri-Nethol-Gabe	15200	8600	25000	14000	-	-	-
6.Tg.Puri-Nethol-Gabe	24100	5500	41100	5200	+	-	-
7.Tg.Puri-Nethol-Gabe	19200	+	78000	+		+	+
8.Tg.Puri-Nethol-Gabe	27700		+				
9.Tg.nach Puri-Nethol-Gabe	+						

Fortsetzung Tabelle 25

Tier Nr.	22g	22i	M.W.
Leukozyten nach 8 Tg. Puri-Netholg.			
0 h vor 3 E Pyriifer	12600	17800	15200
2 h nach 3 E Pyriifer	18600	18900	18750
4 h nach 3 E Pyriifer	22600	23000	22800
6 h nach 3 E Pyriifer	15100	22400	18750
8 h nach 3 E Pyriifer	19100	26000	22550
24 h nach 3 E Pyriifer	14900	78000	46450

Tab. 25 : Leukozyten von 9 Ratten während einer Behandlung mit 32,25 mg Puri-Nethol/kg Körpergewicht und beim Pyrifertest im Anschluß an eine 8-tägige Puri-Nethol-Verabfolgung (Ges.-Dosis 258 mg/kg Körpergewicht), die nur 2 Tiere überlebten, 22g und 22i.

Den Ausfall des Pyrifertest's nach 258 mg Puri-Nethol/kg Körpergewicht zeigt Abb. 20. Tier 22g reagiert normal, 22i zeigt einen deutlichen Leukozytenanstieg.

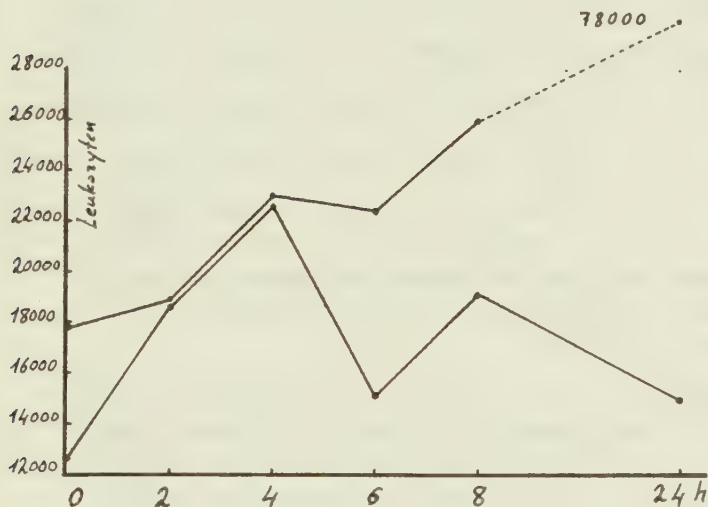


Abb. 20 : Ausfall des Pyrifertest's bei 2 Ratten, die eine 8-tägige Puri-Nethol-Behandlung mit täglich 32,25 mg/kg Körpergewicht überlebten.

ee) Puri-Nethol-Dosis 258 mg/kg Körpergewicht, als Einzelgabe verabfolgt. Pyrifertest mit 3 E 24 Stunden später.

Unter diesen Bedingungen wurde der Pyrifertest bei 5 Tieren durchgeführt. Ein Tier ist vor Abnahme des 24-Stunden-Wertes nach Pyrifergabe verendet, die übrigen Ratten wurden nach Versuchsende getötet. Die Ergebnisse zeigt Tabelle 26.

Tabelle 26

Tier Nr.	23a	23b	23c	23d	23e	M.W.	%
Leukozyten							
24 h nach Puri-Nethol, 0 h vor							
3 E Pyrifer	7600	14600	11800	12600	11400	11600	100
2 h nach							
3 E Pyrifer	9100	16100	13300	10600	12100	12240	105
4 h nach							
3 E Pyrifer	6100	21500	11300	11600	6500	11400	98
6 h nach							
3 E Pyrifer	12300	20700	8300	9600	7600	11700	100
8 h nach							
3 E Pyrifer	14000	12500	9400	12300	7600	11600	97
24 h nach							
3 E Pyrifer	5800	12700	10100	+	6900	8875	76

Tab. 26: Leukozyten bei Pyrifertest an 5 Ratten 24 Stunden nach Einzelgabe von 258 mg Puri-Nethol/kg Körpergewicht.

Die Leukozyten 24 Stunden nach dem Puri-Nethol-Stoß sind bei allen 5 Tieren normal, bei 23a allerdings sowohl 24 Stunden als auch 48 Stunden nach Puri-Nethol-Gabe im unteren Normbereich. 3 von 5 Tieren reagieren völlig normal; die pathologische Reaktion der Tiere 23d und 23e flacht aber die Mittelkurve (Abb. 21) deutlich ab.

ff) Puri-Nethol-Dosis 200 mg/kg Körpergewicht, als Einzelgabe, Pyrifertest mit 3 E 48 Stunden nach Puri-Nethol-Gabe.

Unter diesen Bedingungen wurden 5 Ratten untersucht. Tier 24b starb, bevor der Pyrifertest durchgeführt werden konnte. Die 4 überlebenden Tiere zeigten 48 Stunden nach der Puri-Nethol-Verabreichung normale Leukozytenwerte und einen ganz regelrechten Ausfall des Pyrifertest's.

Tabelle 27

Tier Nr.	24a	24b	24c	24d	24e	M.W.	%
Leukozyten							
48 h nach Puri-							
Netholstoß 0 h							
vor 3 E Pyrifer	8800	+	12900	23500	10700	13975	100
2 h nach							
3 E Pyrifer	10800		15800	40000	8000	18650	133
4 h nach							
3 E Pyrifer	12700		13400	41000	16500	20900	149
6 h nach							
3 E Pyrifer	8800		10400	40600	16200	19000	143
8 h nach							
3 E Pyrifer	13900		18100	40100	9600	20425	146
24 h nach							
3 E Pyrifer	17900		9400	27000	10600	16225	116

Tab. 27 : Leukozyten beim Pyrifer-test an 4 Ratten 48 Stunden nach einer einmaligen Gabe von 200 mg Puri-Nethol/kg Körpergewicht.

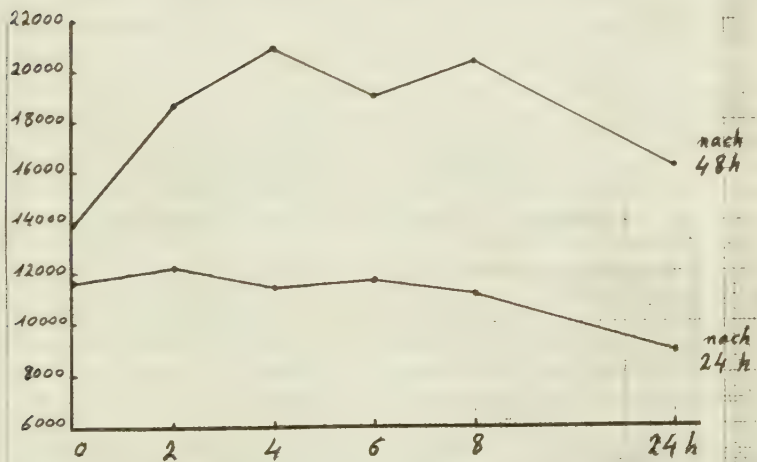


Abb. 21 : Mittelwertkurven eines Pyrifertest's an 5 bzw. 4 Ratten, der 24 Stunden nach Einzelgabe von 258 mg Puri-Nethol/kg Körpergewicht bzw. 48 Stunden nach Einzelgabe von 200 mg Puri-Nethol/kg Körpergewicht durchgeführt wurde.

Zusammenfassend zeigen die Versuche mit unterschiedlichen Puri-Nethol-Dosen, daß dieses Medikament weder im Langzeitversuch (35 Tage) noch mit Dosen im Bereich der LD 50 in der Lage ist, bei Ratten eine Leukopenie oder eine sichere, durch den Pyrifertest faßbare Knochenmarkdepression hervorzurufen. Höchste Puri-Nethol-Dosen führten nie zu Leukopenie und nur bei einzelnen Tieren zu einer abgeflachten Leukozytenkurve nach Pyriferreiz - auch, wenn die Tiere im Verlauf des Versuches oder kurz danach starben.

E.

DISKUSSION

Die zur Prüfung der Knochenmarkfunktionsprüfung nach Pyri-ferreiz verwendete Pyrifermenge wurde immer in 1,5 ml physiologischer Kochsalzlösung injiziert. In Vorversuchen ergab sich, daß die Injektion von 1,5 ml 0,9 % NaCl-Lösung allein keinen nennenswerten Einfluß auf die Leukozytenzahlen von Ratten hat. Es treten zwar Schwankungen der Leukozyten nach der NaCl-Injektion auf, diese lassen aber keinerlei Gesetzmäßigkeit erkennen. Insbesondere ergab sich kein Anhalt für die von KIRMEß geäußerte Ansicht, daß die Injektion von einer pharmakologisch unwirksamen Lösung (1 ml 0,9 % NaCl) zu einem Leukozytenabfall in der 4.-6. Stunde führe. Von unseren 8 Kontrolltieren, bei denen vor und nach Injektion von Kochsalzlösung (Tab. 4) die Leukozyten gezählt wurden, zeigten 5 einen leichten Anstieg und 3 einen leichten Abfall der Leukozyten gegenüber dem Ausgangswert; die Veränderungen bewegten sich dabei in etwa gleicher Weise über oder unter den Wert vor NaCl-Injektion. 24 Stunden nach erstmaligem Kupieren der Schwanzspitze lagen die Leukozytenwerte bei 7 von 8 Tieren (Tab. 4) in Höhe des Ausgangswertes, nur bei einem Tier erfolgte ein Leukozytenanstieg von 9000 auf 11000 Leukozyten. Unsere Vorversuche, bei denen den Ratten mehrfach durch Kupieren der Schwanzspitze Blut abgenommen wurde und denen außerdem 1,5 ml physiologische NaCl-Lösung injiziert worden war, zeigten jedenfalls keine Veränderung der Leukozytenzahlen.

Die Prüfung unterschiedlicher Pyriferdosen ergab, daß 3 E und auch 2 E Pyrifer bei Ratten eine typische Reizantwort im Sinne der MOESCHLIN'schen Knochenmarkfunktionsprüfung hervorrufen (Abb. 2,3,4 und 5). Alle Tiere, denen ohne weitere Vorbehandlung diese Pyriferdosen gespritzt wurden, zeigten nach 4-6 Stunden eine Leukozytose (Tab. 8 und 9; Abb. 2,3,5). Die Ausgangswerte (100 %) wurden im Durchschnitt um 49 % bei den 2 E Pyrifer (Tab. 9) und um 40 % bei den 3 E Pyrifer (Tab. 8) übertroffen. Der initiale Abfall der Leukozyten (die erste, parasymphatische Phase) wurde in der 2. Stunde bei 6 von 14 Versuchstieren (Tab. 8) und 2 von 9 Versuchstieren (Tab. 9) erfaßt. Es erscheint hier,

daß dieser Abfall bei Blutentnahme erst 2 Stunden nach der Pyrifereinjektion nicht mehr erfaßt, sondern bereits durch den Leukozytenanstieg der beginnenden Ausschwemmungsphase überdeckt wird. Nach 8-24 Stunden lagen die Leukozyten wieder nahe den Ausgangswerten. Es ergaben sich dabei, wie im Abschnitt 1-b-dd) u. ee) beschrieben, wenn man das Verhalten der einzelnen Tiere betrachtet, 3 verschiedene Reaktionsformen auf den Pyriferreiz. Ein derartiges Verhalten ist meines Wissens in der Literatur noch nicht beschrieben. Es ist möglich, daß in diesem Verhalten das unterschiedliche Regulationsvermögen des Vegetativums sich ausdrückt. Beim "eingipfligen Typ" liegt der Gipfel nach 4-6 Stunden. Diesem Gipfel folgt ein Abfall nach 8 Stunden im Sinne einer Gegenregulation mit erhöhtem Parasympathicotonus, das Gleichgewicht ist nach 24 Stunden erreicht. Bei der anderen Spielart des eingipfligen Typs ist der Gipfel ebenfalls nach 4-6 Stunden erreicht. Ein gegenregulatorischer Abfall des 8-Stundenwertes besteht aber nicht. Möglicherweise reagiert hier das parasympathische System verzögert. Beim "zweigipfligen Kurventyp" erscheint die Regulation der Leukozytenzahlen nach dem Pyriferreiz besonders rasch abzulaufen, schon nach 4 Stunden ist der Reiz durch Leukozytose beantwortet, nach 6 Stunden zeigt sich ein gegenregulatorischer Leukozytenabfall, nach 8 Stunden erneuter Anstieg, und dann erst der Abfall zur Norm nach 24 Stunden. In diesem Sinne wäre der (häufigste) eingipflige Typ die "Normalantwort", der (seltene) eingipflige Typ mit Leukozytose noch nach 8 Stunden eine verzögerte und der (seltene) zweigipflige Typ die verstärkte Antwort des Vegetativums - hier gemessen an den Leukozytenzahlen - auf die "Auslenkung" durch den Pyriferreiz (Abb. 2,3; Tab. 8,9).

Das Ausmaß der Pyrifere-bedingten Leukozytose bei unseren Ratten entspricht denen die von anderen Autoren (KIRMER, STREICHER et al., KRESTOW, EBERHARD an Ratten und von MOESCHLIN, HEILMEYER u.a. beim Menschen) gefunden wurden. Bezogen auf das Körpergewicht wurden etwa 8-10 E Pyrifere/kg injiziert. Diese Dosis liegt erheblich höher als die, die bei Menschen verwendet wird (0,5-1,5 E/ kg Körpergewicht, MOESCHLIN). Die von HUNDESHAGEN angegebene Dosis von 20 E für Ratten hat sich als viel zu hoch erwiesen. Es wurde auf Grund der Ergebnisse dieser Vorversuche der

Pyrifertest nach vorheriger Trenimon- oder Puri-Nethol-Gabe in der Regel mit 2-3 E durchgeführt. Damit war ein kräftiger, aber nicht zu starker Reiz auf das Leukozytensystem gewährleistet.

Eine statistische Auswertung der Versuchsergebnisse ist nicht erfolgt. Dazu sind die Zahlen der Versuchstiere in den einzelnen Gruppen zu klein. Es wurden in jeder Gruppe 5 Tiere untersucht und die Ergebnisse gemittelt. Das Verhalten des Mittelwertes sollte den Ausfall des Versuchs demonstrieren. Auf diese Weise sollten die Ungenauigkeiten, die bei der Untersuchung nur eines Tieres unvermeidbar wären, ausgeschaltet werden.

Eine Trenimon-Behandlung beim Menschen wird gewöhnlich so durchgeführt, daß mit der intravenösen Injektion relativ hoher Dosen begonnen wird. Speziell zur Recidiv- und Metastasenverhütung bei Krebsoperationen wird empfohlen:

- a) 3-5 Tage lang vor und nach der Operation täglich 0,2 mg Trenimon i.v. zu geben bis zu einer Gesamtdosis von 3-4 mg,
- b) 1 Tag vor und 1 Tag nach der Operation sowie am Operationstag je 1 mg Trenimon i.v. zu geben (Gesamtdosis 3 mg i.v.).

Erfahrungsgemäß führt diese Dosierung beim Menschen noch nicht zu bedrohlichem Leukozytenabfall (DOMAGK, GRÜNBERG, ADELBERGER et al., BUTTENBERG et al., FRANZ, KEPP, LANG-NICKEL, LINKE, STOTTER, WEBER). In der Regel wird nach dieser initialen intravenösen Behandlung das Präparat über Monate peroral weitergegeben (etwa 2 x wöchentlich 0,5 mg oral, KRETZ, 0,5-1 mg Trenimon peroral pro Woche, KLOSE, täglich 0,5 mg peroral, KEPP, 1-3 mg wöchentlich peroral, DOMAGK). Sowohl bei der initialen Stoßbehandlung (0,2 mg i.v. täglich oder 1 mg i.v. täglich bis zur Gesamtdosis von 3-5 mg) als auch bei peroralen Dauerbehandlung sind regelmäßige Leukozytenkontrollen erforderlich. Damit beträgt die initiale Stoßdosis, die auf mehrere Tage verteilt werden muß, beim Menschen rund 5 mg/ 70 kg, das sind 0,07 mg/ kg Körpergewicht. Eine höhere Dosierung ist wegen der Gefahr toxischer Nebenwirkungen beim Menschen nicht möglich (Lite-

ratur wie vorstehend). Demgegenüber erhielten unsere Ratten 0,2-0,3 mg/kg Körpergewicht entweder als Stoßdosis oder verteilt auf 7 Tage. Die Berechtigung zu dieser im Vergleich zur Therapie beim Menschen hohen Dosierung ergibt sich aus den Angaben der Literatur. DRUCKREY fand als LD 50 von Trenimon für Ratten eine Dosis von 0,5 mg/kg Körpergewicht, die über 10-14 Tage gegeben werden muß. Rattentumoren reagieren erst auf Dosen von 0,2 mg/kg Körpergewicht. Demnach muß die therapeutisch wirksame Dosis an Trenimon für Ratten mit 0,2 mg/kg Körpergewicht angenommen werden. HOPPE fand erst bei Dosen von 0,15 mg/kg bei Ratten histologisch faßbare Wirkungen. Auch MAUSS verwendete für seine Studien an Ratten 0,2 mg/kg täglich. OBRECHT et al. gaben für die Ratte eine LD 50 von 0,5 mg/kg an, eine therapeutische Dosis von 0,15 mg/kg.

Wir haben auch die allgemein übliche Dosis von 0,2 mg Trenimon / kg Körpergewicht angewendet und zusätzlich auch, um sichere Auswirkung auf das Knochenmark zu erzielen, 0,3 mg Trenimon / kg Körpergewicht untersucht. Dabei zeigte sich sowohl unter 0,2 mg als auch unter 0,3 mg Trenimon / kg, nach Stoßdosis oder nach einer auf 7 Tage verteilten Anwendung dieser Dosen ein erheblicher Leukozytenabfall, wobei dieser durch tägliche Kontrolle festzustellen war (Abb. 6 - 16). Die Leukozytenzahlen erreichten 24 Stunden nach Stoßdosis von 0,2 mg Trenimon / kg durchschnittlich 59 % des Ausgangswertes (Tab. 10,11), 24 Stunden nach 0,3 mg/kg Trenimonstoßdosis durchschnittlich 49 % des Ausgangswertes und 48 Stunden nach 0,3 mg/kg Trenimonstoßdosis 19,5 % (Tab. 14). Wurde die Trenimondosis auf 7 Tage verteilt und täglich eine Leukozytenkontrolle durchgeführt, so war ein kontinuierlicher Abfall der Leukozyten festzustellen. Hier erreichten die Leukozytenzahlen 24 Stunden nach Abschluß der Behandlung erheblich niedrigere Werte und betrugen nach Gesamtdosis von 0,2 mg Trenimon / kg durchschnittlich 55 % des Ausgangswertes (Tab. 15,17), und nach Gesamtdosis von 0,3 mg Trenimon / kg durchschnittlich 30 % des Ausgangswertes (Tab. 18. 19, 20).

Die Knochenmarkfunktionsprüfung nach MOESCHLIN, der mit 2 oder 3 E Pyrifur 24 bzw. 48 Stunden nach Beendigung der

Trenimondosis durchgeführt wurde, zeigte immer pathologische Reaktionen. 24 bzw. 48 Stunden nach Abschluß einer auf 7 Tage verteilten Trenimondosis von 0,2 mg/kg, sowie 24 Stunden nach Abschluß einer Trenimonstoßdosis von 0,2 mg/kg zeigte der Pyrifertest bei 16 von 26 Tieren schwache (abgeflachter Kurvenverlauf) Reaktionen (Abb. 11, 13. 7). Auch 24 Stunden nach Abschluß einer Trenimonstoßdosis von 0,3 mg/kg zeigte der Pyriferreiz bei 6 von 10 Tieren einen minimalen Anstieg der Leukozyten nach der 4.-6. Stunde des Pyriferreizes (Abb. 8; Tab. 12). Dieses Verhalten der Leukozyten nach dem Testreiz zeigte eine deutliche Abflachung der Kurven der Leukozytenwerte gegenüber dem Verhalten der Leukozyten nach dem Pyriferreiz bei den unbehandelten Tieren, die in Abb. 2, 3 und 4 deutlich in Erscheinung trat.

48 Stunden nach Abschluß einer 0,3 mg/kg Trenimonstoßdosis, sowie 24 bzw. 48 Stunden nach Abschluß einer 0,3 mg/kg auf 7 Tage verteilten Trenimondosis zeigte der Pyriferreiz keine Reaktion des Knochenmarks mehr. Hier tritt die Knochenmarkinsuffizienz ganz deutlich in Erscheinung. Nur 3 von 19 Tieren haben hier auf den Reiz reagiert (Abb. 10, 14, 15 u. 16; Tab. 14, 18, 19 u. 20). In der Regel sanken die Leukozyten auch nach dem Pyriferreiz weiter ab. Wurden 0,2 oder 0,3 mg Trenimon/ kg als Stoßdosis verabfolgt, so fielen die Leukozyten 24, 48 Stunden auch 72 Stunden nach (0,3 mg/kg Abb. 10; Tab. 14) Medikamentgabe noch ab. Wurde die gleiche Dosis auf 7 Tage verteilt gegeben, so hielt der Leukozytenabfall nur bis 48 Stunden nach Beendigung der Trenimongabe an. 72 Stunden (3 Tage) nach Ende der Trenimongabe zeigen die Leukozyten bei "verzettelter Dosis" wieder eine ansteigende Tendenz, offenbar ist nun schon eine gewisse Erholung des leukopoetischen Systems erfolgt (Abb. 13, 16; Tab. 17, 20). Dieses Verhalten, also Leukozytenabfall und pathologische Knochenmarkfunktion nach Pyriferreiz, war unabhängig von der Art der vorherigen Trenimonanwendung. Wir können also sagen, daß die zur Zerstörung experimenteller Tumoren bei Ratten erforderliche Trenimondosis, also therapeutische Dosis, (DRUCKREY, HOPPE, OBRECHT) eine erhebliche Leukopenie und Störung der Leukozytenregulation, die mit dem Pyrifertest gemessen wird, nach sich ziehen.

Die Pyriferversuche 24 bzw. 48 Stunden nach Beendigung der Trenimondosis lassen darauf schließen, daß die Trenimonbedingte Knochenmarkdepression am ausgeprägtesten ist,

- a) 48 Stunden nach Einzelgabe von 0,3 mg Trenimon/ kg Körpergewicht als Stoßdosis.
- b) 24 bzw. 48 Stunden nach Beendigung der Medikamentgabe, wenn 0,3 mg Trenimon/ kg Körpergewicht auf 7 Tage verteilt wurden.

6-Mercaptopurin (Puri-Nethol ¹⁵) wurde den Ratten zunächst in einer Dosis verabfolgt, die der therapeutischen Dosis beim Menschen entspricht, nämlich 2,5 mg/kg Körpergewicht. Ein Leukozytenabfall wurde auch bei täglichen Gaben dieser Menge über 35 Tage (entsprechend einer Gesamtdosis von 87,5 mg/kg) nicht beobachtet (Tab. 21). Der Pyrifertest nach 35-tägiger 6-Mercaptopurin-Gabe fiel völlig normal aus. Es wurde nun versucht, eine Leukopenie und / oder Knochenmarkdepression durch Erhöhung der 6-Mercaptopurin-Dosis zu erzwingen. Die verwendeten Puri-Nethol-Dosen betrugen 80 mg/kg Körpergewicht, verteilt auf 8 Tage (Tab. 22), 133,6 mg/kg Körpergewicht, verteilt auf 8 Tage (Tab. 23), und 133,5 mg/kg Körpergewicht, die als Einzeldosis an einem Tage gegeben wurden (Tab. 24a, 24b). Immer blieben unter diesen Bedingungen die Leukozyten im Normbereich, der Pyrifertest war sowohl nach verzettelten 80 mg/kg bzw. 133,6 mg/kg Gruppen, als auch nach einer Stoßdosis von 133,6 mg/kg Gruppen 24 bzw. 48 Stunden unverändert normal (Abb. 18, 19; Tab. 22, 23, 24a u. 24b).

Auch Dosen im Bereich der LD 50 (200 bzw. 258 mg Puri-Nethol/ kg Körpergewicht) führten nicht zu Leukozytenabfall oder Veränderung des Pyrifertestes (Tab. 25, 26, 27). Dabei war es gleich, ob der Pyrifertest 24 oder 48 Stunden nach Puri-Nethol-Gabe durchgeführt wurde. Die Beobachtung, daß 6-Mercaptopurin im Kurzzeitversuch zu keiner faßbaren Störung des leukopoetischen Systems führt, stehen in Übereinstimmung mit der klinischen Beobachtung, daß das Medikament eine "Anlaufzeit" braucht, ehe es zu Verminderung der Leukozyten, etwa bei einer Leukämie, kommt. 9 Ratten wurden täglich 32,25 mg Puri-Nethol/ kg Körpergewicht verabfolgt, so zeigte

sich, daß 5 Tiere nach dem 6. Tag verendet waren, nach 9 Tagen lebten nur noch 2 Ratten (Tab. 25). Unsere Versuche mit höchsten Puri-Nethol-Dosen zeigen also, daß die LD 50 bei täglicher Gabe von 32,25 mg Puri-Nethol/ kg (Gesamtdosis 193,5 mg Puri-Nethol/kg) nach dem 6. Tag war. Bekamen die Tiere höchste Dosen Puri-Nethol auf einmal (200-258 mg Puri-Nethol/kg), so waren 48 Stunden nach der Verabreichung nur 2 von 10 Tieren verendet.

Das unterschiedliche Verhalten der Leukozytenzahlen und des Pyrifertest's nach Trenimon- und Puri-Nethol-Gaben ist sicher auf den unterschiedlichen Wirkungsmechanismus der Substanzen zurückzuführen. Das Radiomimeticum Trenimon mit seiner hochaktiven Aethyleniminingruppen greift unmittelbar in den Stoffwechsel der Zelle (DOMAGK, PÜTTER, BROCK u. WILLMANN), während das 6-Mercaptopurin (Puri-Nethol) erst in den Stoffwechsel der Nucleinsäuren eingeschleust werden muß, bevor es seine Wirkung entfalten kann (ELION et al., WILLMANN).

F.

ZUSAMMENFASSUNG

Es wird über Versuche an 156 weiblichen Albinoratten berichtet, bei denen unter verschiedenen Bedingungen die Leukozyten gezählt und Knochenmarkfunktionsprüfung nach MOESCHLIN mit Pyrifur durchgeführt wurde. Dabei zeigt sich:

- 1) Die Gabe von 1,5 ml physiologischer Kochsalzlösung und das Kupieren der Schwanzspitze zur Blutentnahme führen zu keinen nennenswerten Veränderungen der Leukozytenzahlen.
- 2) Brauchbare Leukozytenkurven im Sinne der Knochenmarkfunktionsprüfung nach MOESCHLIN an Ratten erhält man nach Injektion von 2-3 E Pyrifur.
- 3) Sowohl therapeutische Dosis von 0,2 mg/kg als auch höhere Dosis (0,3 mg/kg) Trenimon führen zu deutlichem Leukozytenabfall und pathologischem Ausfall der Knochenmarkfunktionsprüfung nach MOESCHLIN, 24-48 Stunden nach Beendigung dieser Medikamentgabe, und zwar unabhängig davon, ob das Medikament als Einzelgabe oder über 7 Tage verteilt verabfolgt wird.
- 4) Die 35-tägige Gabe therapeutischer 6-Mercaptopurin-Dosen (2,5 mg Puri-Nethol/kg) und die Verabfolgung in hohen und höchsten Dosen (80, 133,6 und 258 mg Puri-Nethol/kg) innerhalb 1-8 Tagen führt nicht zu Leukozytenabfall und nicht zur Störung im Ausfall der Knochenmarkfunktionsprobe nach MOESCHLIN 24-48 Stunden nach Abschluß dieser Medikamentgabe.
- 5) Die Ergebnisse werden in Tabellen registriert, in Kurven dargestellt und im Rahmen der Literatur diskutiert.

G.

LITERATUR

- ADELBERGER u. WÖRN: Erfahrung und Aussichten der kombinierten chirurgisch-zytostatischen Behandlung des Bronchialkarzinoms. Mitteilungsdienst d. GBK Nordrhein-Westf. 2, 521-550 (1962) Nr. 2
5 Jahre zytostatische Therapie bei Malignomen des Brustraums. Krebsarzt 17, 51-67 (1962) Nr. 2
- BEER: Über die nervös-humorale Regulation des Blutes. Folia hämat. 66, 222 (1942)
- BLUMENCRON u. BORKENSTEIN: Wien. Zschr. inn. Med. 30, 470, (1949)
- BOCK u. FRENZEL: Splenogene Markhemmung. Kli.Wo. 17, 1315 (1938)
- BORKENSTEIN: Untersuchungen über die cytotatische Funktion des Knochenmarks bei normalen peripheren Leukozytenzahl. Wien. med. Wschr. 102/6 (1952), 116
- BROCK u. WILMANNS: Pharmakologische Grundlagen der Chemotherapie des Krebses. Die Therapiewoche 10, (1960) 12: 5-15
- BÜTTENBER u. TÄGER: Die Chemotherapie des fortgeschrittenen Orarialkarzinoms. Med. Welt 2093-2100 (1962) Nr. 40
- BURCHENAL et al.: 1) Effects of 6-mercaptopurine in man. Proc. Am. Assoc. Cancer Research. 1: 7-8 (1953).
2) Clinical evaluation of a new anti-metabolite, 6-mercaptopurine, in the treatment of the leukemia and allied diseases. Blood: 8: 965-999 (1953).
- CLARKE et al.: 1) 6-Mercaptopurine: an inhibitor of mouse sarcoma 180. Proc. Amer. Ass. Cancer Research 1: 9-10 (1953).
2) 6-Mercaptopurine: effects in mouse sarcoma 180 and in normal animals Cancer Research 13: 593-604 (1953).

- COHRS et al.: Pathologie der Laboratoriumstier.
Band 1 u. 2 (1958) S. 187
- DOMAGK:
- 1) Die derzeitige Indikationstellung der Chemotherapie bösartiger Geschwülste mit Äthyleniminobenzochinonen. Münch. med. Wschr. 102, 857-859 (1960) Nr. 17
 - 2) Über den Stand der experimentellen Krebsforschung. Mitteilungsdienst d. GBK Nordrhein-Westf. 263-82 (1961)
 - 3) Sinn und Ziel einer chemotherapeutischen Prophylaxe bei Krebsoperationen. Krebsarzt 15, 235-239 (1960) Nr. 6
- DRUCKREY u. Mitarb.: Experimentelle Beiträge zum Dosisproblem in der Krebschemotherapie und zur Wirkungsweise von Endoxan. Dtsch. med. Wschr. 88 (1963), S. 651
- EBERHARD: Knochenmarkfunktionsprüfung bei Gabe von Periston und Seretin, verglichen mit Kochsalzlösungen und Tusche. Inaug. Diss. Marburg 1964.
- ELION et al.: The fate of 6-mercaptopurine in the mouse. Proc. Am. Asso. Cancer Research 1: 13 (1954)
- FRANZ: Chemoprophylaxe mit Trenimon bei diagnostischen Eingriffen mit Erkennung von Mammakarzinomen. Ther. Ber. (Bayer) 34, 226-227 (1962) Nr. 6.
- FRANZ u. GUDRUN: Über die Behandlung von malignen Geschwülsten im gynäkologischen Bereich und von Mamma-Karzinomen mit Zytostatika. Geburt. u. Frauenheilkunde 1, 25-36 (1962).
- FARRIS u. GRIFFITH: The Rat in Laboratory Investigation. Philadelphia Lippincott Comp. (1942)
- GOLDIN et al.: Studies on the toxicity and antileukemic action of 6-mercaptopurine in Mice - Annals of the N.Y. Academy of Sciences, 60, (1954).

- GRÜNBERG: Die Wirkung eines Zytostatikums auf das Reparationsgewebe am Modell des sterilen Abszesses. Arch. Ohr-, Nas.- u. Kehl.-Heilk. 181, 32-40 (1962) Nr. 1
- HEILMEYER: Funktionsprüfung der Leukopoese des Knochenmarks. Handbuch d. ges. Hämato 2. Band, 2. Teil, 2. Halbband. (1960) Urban u. Schwarzenberg.
 Physiologische Beziehungen zwischen Milz und Knochenmark. Kli.Wo. 29/30, 689. (1955)
 (Herausg.) Lehrbuch der Inneren Medizin. 2. Auf., Springer-Verlag (1961)
- HELLNER, NISSEN, VOSSSCHULTE: (Herausg.) Lehrbuch der Chirurgie 3. Auf., Georg Thieme (1962)
- HESS: Vegetative Funktion und Zwischenhirn Helv. Physiol. Acta. Suppl. 4 (1947)
- HOFF: Zur pathologischen Physiologie des Weißenblutbildes. Münch. med. Wschr. 77, 124 (1930)
 Über den Einfluß von Bakterienstoffen auf das Blut. Zschr. f. d. ges. exp. Med. 67 (1929) Heft 5/6
 Über das Zusammenspiel der vegetativen Regulation. Kli.Wo. 14 (1934) S. 519
 Neurohumorale Regulation des Blutes. 5. Kongr. d. Euro. ges. f. Hämato, Freiburg, (1955) Springer-Verlag.
- HOFF u. LINHARDT: Über die zentral-nervöse Regulation des Blutes. Zschr. f. d. ges. ex. Med. 63 (1928) Heft 3/4
- HUNDESHAGEN: Fiebererzeugung bei Laboratoriumstier. Zschr. f. Immunitätsforschung 90, Heft 3, (1937)
- HUTH: Die Behandlung der Leukämie im Kindesalter. Med. Welt Nr. 20, 1124 (1963).
- KELLER: V. Kongr. d. Europ. Ges. f. Hämato. 333 (1956)

- KEPP: Chemotherapie bei bösartigen Erkrankungen des weiblichen Genitale. *Mkurse. ärztl. Fortb.* 12, 399-400 (1962) Nr. 8
Die Anwendung von Zytostatika in der gynäkologischen Tumorthherapie. *Med. Mschr.* 16, 588-592 (1962) Nr. 9
- KIRMEß: Knochenmarkfunktionsprüfung nach Moeschlin an Ratten unter der Einwirkung von Endoxan u. Macrodes 6 %. *Inaug. Diss. Marburg* (1965)
- KLEIBEL: Klinische Erfahrungen bei der palliativen Tumorbehandlung mit Tris-aethyleniminobenzochinon (Trenimon). *Med. Welt.* Nr. 43, 2282-2285 (1962)
- KLOSE: Chemotherapie mit Zytostatika als Nachbehandlung. *Strahlentherapie*, 48 SB, 108-110 (1960)
- KOMIYA: Die nervöse Regulation der Blutkörperchen. 5. Kongr. d. Euro. Ges. f. Hämato., Freiburg (1955) Springer-Verlag 1956
- 1) Nachschub, Verteilung und Untergang der Leukozyten,
 - 2) Zahlenverschiebungen der Leukozyten. *Handb. d. ges. Hämato.*, Urban u. Schwarzenberg 1959 II Band, Teil 2, 1.2. Halbband.
- KRESTOW: Über den Einfluß von Milzextirpation und Milztransplantation auf die Leukozytenbewegung. *Inaug. Diss. Heidelberg* (1960).
- KRETZ: Der gegenwärtige Stand der Chemotherapie maligner Tumoren. *Wien.Med. Wschr.* Nr. 41/42, 782-786 (1962)
- KRÖGER: Zur Wirkung von Karzinostatika auf Enzym-Systeme. *Med. Welt.* Nr. 20, 1108 (1963).
- KÜSCHINSKY u. LÜLMANN: Kurzes Lehrbuch der Pharmakologie. Georg Thieme, 248 (1964)

- LANGNICKEL: Zur Behandlung von Malignomen mit Tris-Äthyleniminobenzochinon, 19. Norandrosterolon - Decanoat u. Prednison. Med. Welt. Nr. 18, 1015-1022 (1963)
- Trenimon-Behandlung bei Malignomen erkrankten Frauen. Geburtsh. u. Frauenheilk. 23, 101, Nr. 1 (1963).
- LINKE: Die Behandlung der Hämoblastosen und malignen Tumoren mit Trisaethyleniminobenzochinon. D. Med. Wschr. Nr. 44 1928/1933-1936/ 1930-1931 (1960)
- Krebsbehandlung mit Tris-äthyleniminobenzochinon (Trenimon). J. Amer. med. Ass. 177, 716 Nr. 10 (1961).
- MEYTHALER et al.: Beitrag zur Chemotherapie maligner Tumoren. Der Landarzt, H. 26, 1129-1134 (1962)
- MOESCHLIN: Die Leukozytenkurve nach Pyrifur als Knochenmarkfunktionsprüfung. Helv. Med. Acta. 12, S. 229 (1945)
- OBRECHT u. WOENCK-HAUS: Diskussion. Mitteilungsdienst d. GBK Nordrhein-Westf. 2, 729 (1963) Nr. 10
- PÜTTER: 1) Stoffwechselwirkungen von Äthyleniminobenzochinonen. Arzneim.-Forsch. (Drug Res.) 10, 8-12 (1960)
- 2) Die Beeinflussung des Energiehaushaltes der Tumorzelle durch Trenimon. Krebsforschung und -bekämpfung, Band IV, 118-126 (1961)
- PÜTTER u. BIERLING: Über Beziehungen zwischen der Beeinflussung des Energiestoffwechsels und der Wachstumshemmung der Tumorzellen durch Trenimon. Med. u. Chem. 7, 679-700 (1963)
- RATHGEN u. HUMKE: Die Wirkung cytostatischer Substanzen auf den Nucleinsäure-Stoffwechsel. Geburtsh. u. Frauenheilk., 22, 83 (1962) Nr. 1

- ROSENOW: Hirnstammnekrose, Hyperthermie
und experimentelle Leukozytose.
Kli., Wo. 10, 1588, (1930)
- ROSS. W.C.J.: Ann. N.Y. Acad. Sc. 68:669 (1958)
- SCHILLING: Die Regulation des morphologischen
Blutbildes, 5 Kong. d. Europ. Ges.
f. Hämato., Freiburg (1955) Springer-
Verlag 1956
- SCHNEIDER u. SIEDE: Beitrag zur Behandlung des Lympho-
sarkoms. Münch. Med. Wschr. Nr. 35
1688-1691 (1961)
- SPIESSL: Möglichkeiten und bisherige Ergeb-
nisse bei der Anwendung des Treni-
mon bei malignen Tumoren im Kiefer-
und Gesichtsbereich. Symposien aktu-
eller therapeutischer Probleme.
Heft 3, 210-221 Ferdinand Enke Verlag,
Stuttgart 1961
- STÖTTER: Chemotherapie der malignen Geschwül-
ste. Wien. Med. Wschr., 539-545
(1961) Nr. 34
- STREICHER: Experimentelle Splenektomie in
ihrer Wirkung auf Erythrozytenrege-
neration, Leukozytenregeneration
und Blutungsschock. Langenbecks
Arch. Klin. Chir. 293, 245 (1960)
- STREICHER et al.: Hemmen Plasmaexpander die Leukozy-
tenausschwemmung aus dem Knochen-
mark? Langenbecks Arch. Klin. Chir.
311, 252-262 (1965)
- WESTPHAL u. Mitarb.: Zschr. Naturforsch. Bb 7b, 9/10
(1952)
- WILMANN: Indikation zur Behandlung akuter
Leukämie mit 6-Mercaptopurin auf
biochemischer Grundlage. D. med.
Wschr. Nr. 17, 900 (1963)

Lebenslauf

Am 3. Dezember 1936 wurde ich, Albert Said Bedros, als Sohn des Kaufmanns Said Bedros und dessen Ehefrau Bahija geb. Sabach in El-Hassake, Syrien geboren. Von 1944 bis 1949 besuchte ich die Volksschule in El-Hassake. Von 1950 bis 1954 besuchte ich dort die Mittelschule. Im Jahre 1954 trat ich in das Patriarch-College in Damaskus ein, wo ich 1956 die Reifeprüfung ablegte. Von 1956 bis 1957 besuchte ich die American University in Beirut, Libanon, wo ich meine Englischkenntnisse verbesserte. Im Mai 1958 kam ich in die Bundesrepublik Deutschland, um Medizin zu studieren; in Arolsen nahm ich vom 5. Mai 1958 bis 27. August 1958 an einem deutschen Sprachkurs des Goethe-Institutes teil. Seit dem 27. Oktober 1958 war ich als ordentlicher Studierender der Medizin an der Philipps-Universität Marburg immatrikuliert. Nach dem Sommer-Semester 1959 bestand ich das Vorphysikum, nach dem Winter-Semester 1961-1962 das Physikum und nach sechs klinischen Semestern meldete ich mich zur ärztlichen Prüfung, wo ich am 11. November 1965 mit gut bestand.

Vom 1. April 1966 bis 14. Oktober 1966 war ich als Medizinalassistent an der chirurgischen Abteilung des Jung-Stilling-Krankenhauses in Siegen, weiterhin vom 15. Oktober 1966 bis 31. Januar 1967 an der Chirurgischen Universitätsklinik Marburg/Lahn, tätig.

Herrn Professor Dr. med. Schwaiger danke ich
dafür, daß er mir Gelegenheit gegeben hat, meine
Arbeit in seiner Klinik durchführen zu dürfen.

Herrn Professor Dr. med. H. Streicher danke ich
für die Überlassung des Themas dieser Arbeit und
die wertvolle Unterstützung und Beratung.

Meine akademischen Lehrer waren die Herren
Professoren und Dozenten an der Philipps-Universität
Marburg:

Beckmann, Berendes, Bickel, Bock, Braun-Falco, Brück,
Buchholz, Bücher, Dimroth, Dölle, du Mesnil de Rochemont,
Eggstein, Exner, Gedigk, Gerok, Golenhofen, Hamm, Hartmann,
Hensel, Heuser, Hildebrandt, Hornung, Huber, Jacob, Kessler,
Lang, Linneweh, Löhr, Lübers, Mahr, Mann, Martini, Marx,
Mathes, Maurath, Neubauer, Niessing, Nieth, Oehme, Oehmig,
Oksche, Overbeck, Petry, Rohen, Salfeld, Sauer, Schiff,
Schleyer, Schmid, Schmitz, Schölmerich, Schwaiger, Seidel,
Siegert, Siess, Stein, Straub, Streicher, Vogt, Walcher,
Waller, Würterle.

